

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PÓS-GRADUAÇÃO AGRICULTURA TROPICAL**

BRUNA CARMINATE

**ATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS SOBRE O
CONTROLE “*IN VITRO*” DE *COLLETOTRICHUM*
*MUSAE***

**São Mateus, ES
Fevereiro de 2015**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA TROPICAL**

**ATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS SOBRE O
CONTROLE “*IN VITRO*” DE COLLETOTRICHUM
MUSAE**

BRUNA CARMINATE

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, para obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Barreto da Silva

**São Mateus, ES
Fevereiro de 2015**

ATIVIDADE DE EXTRATOS ETANÓLICOS SOBRE O CONTROLE “*IN VITRO*” DE COLLETOTRICHUM MUSAE

BRUNA CARMINATE

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agricultura Tropical, para obtenção do título de Mestre em Agricultura Tropical.

Aprovada:

Prof. Dr. Christiane Mapheu Nogueira
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Rosana Sambugaro
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof. Dr. Camilo Amaro de Carvalho
Universidade Federal de Viçosa
(Co-orientador)

Prof. Dr. Marcelo Barreto da Silva
Universidade Federal do Espírito Santo
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Á Deus que me concedeu o dom da vida, pela oportunidade de aprendizagem me permitindo chegar até aqui, por me amparar nos momentos difíceis, me dar força para superar as dificuldades e determinação para que completasse mais uma etapa da minha vida.

Aos meus pais, Ângela e Antônio que sempre me incentivaram e apoiaram, não permitindo que eu desistisse e que sempre acreditaram em mim.

Às minhas irmãs, Caroline e Camila pela paciência e amizade em todos os momentos.

Agradeço a Universidade Federal do Espírito Santo e ao Programa de Pós-graduação Agricultura Tropical (PPGAT) pelo curso oferecido e pela oportunidade de ingresso.

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Professor Valdenir José Belinelo (*in memoriam*) por ter guiado meus primeiros passos na pesquisa, pelos conselhos e amizade. Nem a morte apagará os ensinamentos de um mestre.

Em especial ao professor Dr. Marcelo Barreto da Silva por aceitar me orientar, pela paciência, incentivo, confiança, ensinamentos e amizade.

Agradeço a todos os professores do PPGAT que contribuíram para o cumprimento desta etapa.

A Winicius, Wallas e Larissa pela amizade e por toda a ajuda prestada durante o experimento.

Aos meus colegas de Pós-graduação, Joel, Humberto, Paulo, Danielly, Gessica Luciene, Ivanildo, Jeferson, Adriel, kristhiano, Oziel, Luciana e Ivana pelo companheirismo e amizade ao longo do curso.

A minha grande amiga Alessandra pelos conselhos, amizade, força e otimismo nos momentos de desânimo e cansaço.

A todos que, de alguma forma, direta ou indireta, colaboraram na realização deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1.** *Eugenia astringens* C. fotografada na restinga de Guriri, São Mateus – ES, arbusto (A) e ramos com frutos (B). (Fonte: Arquivo pessoal)9
- FIGURA 2.** *Licania tomentosa* (Benth) Fritsch, árvore (A) e folhas (B). (Fonte: Arquivo pessoal)..... 11
- FIGURA 3.** *Vernonia polyanthes* Less ramos (A) e flores (B) (Fonte: Arquivo pessoal)..... 12
- FIGURA 4.** Frutos de banana com lesão típica da doença, apresentando massa conidial rósea no centro da lesão (Fonte: Arquivo pessoal). 17
- FIGURA 5.** Ensaios com o fungo *Colletotrichum musae*; Solubilização do extrato em meio BDA (A); Corte dos discos de micélio do fungo (B); Inoculação do disco no meio com extrato (C); Diâmetro da colônia formada (D) 18
- FIGURA 6.** Teste para determinação de alcalóides, Assa-Peixe flor (A); Assa-Peixe folha (B); Oiti folha (C)20
- FIGURA 7.** Determinação de cumarinas; Eugenia folha (A1); Eugenia semente (A2); Assa-peixe folha (B 1); Assa-folha flor (B 2); Oiti folha (C).20
- FIGURA 8.** Determinação de fenóis e taninos; Eugenia folha (A1); Eugenia semente (A2); Assa-peixe folha (B1); Assa-folha flor (B2); Oiti folha (C)21
- FIGURA 9.** Determinação de flavonóides; Eugenia folha (A1); Eugenia Semente (A2); Assa-peixe flor (B1); Assa-peixe folha (B2); Oiti folha (C)21

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Classes de compostos detectados nos extratos etanólicos das espécies e suas partes.....	19
TABELA 2. Redução de crescimento micelial do fungo <i>Colletotrichum musae</i> em placas de Petri, submetidos à concentração de 1000ppm de diferentes extratos etanólicos de plantas	22

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Cultura da banana.....	3
2.2. Antracnose.....	4
2.3. Utilização de extratos vegetais na agricultura.....	6
2.4. <i>Eugenia astringens</i> cambes.....	8
2.5. <i>Licania tomentosa</i> (Benth) Fritsch.....	10
2.6. <i>Vernonia polyanthes</i> Less.....	11
3. METODOLOGIA	13
3.1. Material vegetal.....	13
3.2. Obtenção dos extratos.....	13
3.3. Triagem fitoquímica.....	14
3.3.1. Determinação de flavonóide.....	14
3.3.1.1. Reação de cianidina.....	14
3.3.1.2. Reação de $ALCL_3$	14
3.3.2. Determinação de cumarinas.....	15
3.3.3. Determinação de alcalóides.....	15
3.3.4. Determinação de saponinas.....	15
3.3.5. Determinação de esteróides e triterpenos.....	15
3.3.6. Determinação de naftoquinonas	16
3.3.7. Determinação de fenóis e tanino	16

3.4. Obtenção do isolado.....	16
3.5. Ensaio antifúngico.....	17
3.6. Análise estatística.....	18
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
5. CONCLUSÃO.....	24
6. REFERÊNCIAS.....	25

RESUMO

CARMINATE, Bruna; M.Sc.; Universidade Federal do Espírito Santo; Fevereiro de 2015; **Atividade de extratos etanólicos sobre o controle “*in vitro*” de *Colletotrichum musae***; Orientador: Marcelo Barreto da Silva, Co-orientador: Camilo Amaro de Carvalho.

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de frutas. O Estado do Espírito Santo está entre os maiores produtores de banana (*Musa spp.*) e contribui consideravelmente para exportação desta fruta. No entanto a produção tem sido afetada pela ocorrência de doenças pós-colheita, afetando a qualidade e quantidade dos frutos disponíveis para exportação e consumo local. Diversas doenças afetam a qualidade das frutas na fase pós-colheita, como a antracnose, doença ocasionada pelo fungo *Colletotrichum musae* no fruto de banana, que representa o mais grave problema em pós-colheita desta fruta. A utilização de fungicidas de origem vegetal poderá constituir um método alternativo e promissor no controle de doenças, pois além de serem de fácil obtenção e baixo custo, minimizam os problemas de toxicidade apresentados pelos produtos químicos sintéticos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade de extratos vegetais de *Eugenia astringens* Cambess, *Licania tomentosa* e *Vernonia polyanthes* Less no controle *in vitro* do fungo fitopatogênico *C. musae*. O extrato etanólico foi obtido a partir de folhas e sementes de *E. astringens*, folhas de *L. tomentosa* e folhas e flores de *V. polyanthes* por maceração e realizado a triagem fitoquímica. Os compostos do metabolismo secundário encontrados foram alcalóides, saponina, flavonóis, fenóis e taninos, esteróides, terpenos e cumarinas. Todos extratos testados apresentaram atividade significativa no crescimento do *C. musae*. O extrato mais ativo foi o obtido da folha de *Licania tomentosa* e reduziu em 60% o crescimento radial micelial do fungo. Os extratos testados apresentam alternativa promissora no controle da antracnose de banana pós-colheita.

Palavras-chave: Triagem fitoquímica, controle biológico, antracnose, banana.

ABSTRACT

CARMINATE, Bruna; M.Sc.; Universidade Federal do Espírito Santo; February 2015; **Activity of the ethanolic extracts over the control "in vitro" of *Colletotrichum musae***; Advisor: Marcelo Barreto da Silva, Co-Advisors: Camilo Amaro de Carvalho.

Brazil is the world's second largest producer of fruits. The Espírito Santo State is among the largest producer of banana (*Musa sp*) and contributes considerably to export this fruit. However, the production has been affected by the occurrence of diseases post-harvest, affecting the quality and quantity of fruit available for export and local consumption. Various diseases affect the quality of fruit in post-harvest, as anthracnose disease caused by the fungus *Colletotrichum musae* on banana fruit, which represents the most serious problem in post-harvest this fruit. The use of fungicides of vegetable origin may constitute an alternative and promising method of disease control, as well as being easy to obtain and low cost, minimize the toxicity problems presented by synthetic chemical products. Therefore, the objective of this study was to evaluate the activity of vegetable extracts of *Eugenia astringens* Cambess, *Licania tomentosa* and *Vernonia polyanthes* Less in control *in vitro* fungus phytopathogenic *C. musae*. The ethanolic extract was obtained from *E. astringen* leaves and seeds, *L. tomentosa* leaves and *V. polyanthes* leaves and flowerers by maceration and performed the phytochemical screening. The compounds of secondary metabolism were found alkaloids, saponins, flavonoids, phenols and tannins, steroids, terpenes and coumarins. All extracts tested showed significant activity on the growth of *C. Musae*. The most active extract was obtained from *Licania tomentosa* leaves and reduced in 60% of the radial growth of mycelia fungus. The extracts tested showed promising alternative for the control of anthracnose in banana post-harvest.

Keywords: Phytochemical screening, biological control, anthracnose, banana.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de frutas, onde o Estado do Espírito Santo está entre os maiores produtores de banana (*Musa spp.*) e contribui consideravelmente para exportação desta fruta (ESPIRÍTO SANTO, 2010; BRASIL, 2011).

No entanto a produção tem sido afetada pela ocorrência de doenças pós-colheita, que são responsáveis por perdas superiores a 50% (TAVARES, 2004; TAVARES e SOUZA, 2005; MEDINA e PEREIRA, 2004), afetando a qualidade e quantidade dos frutos disponíveis para exportação e consumo local, isso por diminuir a vida de prateleira e a atração do consumidor pelo fruto (ANTHONY et al., 2004; SILVA, 2008; DEL PONTE, 2009; VENTURA e HINZ, 2002).

Diversas doenças afetam a qualidade das frutas na fase pós-colheita, como a antracnose, doença ocasionada pelo fungo *Colletotrichum musae* no fruto de banana, que representa o mais grave problema em pós-colheita desta fruta (PESSOA, 2007; MARTINS et al., 2005; MAQBOOL et al., 2010; PESSOA e OLIVEIRA, 2006). A origem das lesões se dá por duas formas distintas: lesões originadas de infecções que ocorrem em frutos verdes, permanecendo latentes até o amadurecimento; lesões oriundas de infecções ocorridas em pós-colheita, decorrentes de ferimentos na superfície dos frutos, resultando em lesões não latentes (CORDEIRO et al., 2005; GOMES, 1996; ZAMBOLIM et al., 2002; NERY-SILVA et al., 2001).

O controle desta doença pode ser através de medidas curativa, biológica, cultural e química, como também por meio de medidas preventivas, tais como a seleção de uma cultivar resistente, uso da redução da temperatura de

armazenamento, etc. (CIMANGA et al., 2002; PUPO et al., 2003; SILVA et al., 2008). No entanto a medida de controle mais utilizada são os fungicidas químicos como o Imazalel e tiabendazol (BRASIL, 2010), os únicos liberados para uso na cultura da banana em pós-colheita (AGROFIT, 2010; VENTUROSOSO et al., 2010).

Paula Jr (2005) destaca que o uso intensivo e prolongado de produtos químicos na agricultura tem sido questionada pela sociedade, em decorrência dos efeitos adversos causados por estes. Os agroquímicos quando utilizados de forma inadequada causam danos ao meio ambiente, como a poluição da água e do ar, contaminação de alimentos, efeitos tóxicos ao homem, animais e a vegetais, além disso, o uso indiscriminado destes produtos pode favorecer o surgimento de pragas secundárias e a seleção de espécies de fungos resistentes a fungicidas.

Por este motivo, a busca por métodos alternativos para o controle de pragas na agricultura tornou-se estratégica, visando reduzir os danos ao meio ambiente e à saúde humana. A utilização de fungicidas de origem vegetal constitui um método alternativo e promissor no controle de pragas, por ser de fácil obtenção e baixo custo. Vários trabalhos desenvolvidos com extratos brutos ou óleos essenciais, obtidos a partir de plantas medicinais, têm indicado o potencial dessas substâncias no controle de fitopatógenos.

As plantas sintetizam diversos compostos conhecidos como metabólicos secundários, que pertencem às várias classes de substâncias químicas, como terpenóides, alcalóides, compostos fenólicos, cumarinas, flavonóides, entre outras (DI STASI, 1996; DINIZ et al., 2006; GACHOMO e KOTCHONI, 2008). Estas substâncias são responsáveis por fornecer proteção às plantas, exercer atividade antimicrobiana, antifúngica e antiviral (STANGARLIN et al., 1999).

Diante do exposto este trabalho teve como objetivos realizar a prospecção fitoquímica e avaliar a atividade antifúngica *in vitro* de extratos etanólicos obtidos das folhas e sementes de *Eugenia astringens* Cambess, folhas de *Licania tomentosa* e folhas e flores de *Vernonia polyanthes* Less frente ao fungo *Colletotrichum musae*.

2. REVISÃO LITERATURA

2.1. Cultura da banana

Originada do continente asiático, a banana (*Musa* spp.) é uma monocotiledônea pertencente à família Musacea, gênero *Musa*, sendo este um vegetal herbáceo completo, pois apresenta caule (rizoma), raiz, folhas, flores, frutos e sementes e, perene, uma vez que novos perfilhos nascem da base da planta-mãe (BORGES; SOUZA; ALVES, 2000).

A banana destaca-se no cenário da fruticultura mundial como uma das frutas mais produzidas e consumidas no mundo, alcançando em 2012 uma produção de 101,9 milhões de toneladas (FAO, 2014).

O Brasil ocupou a quinta posição no *ranking* dos países produtores de banana na safra 2012/2013, com uma área cultivada de 481.116 hectares e uma produção de 6,9 milhões de toneladas de frutos, estando na liderança à Índia, a China, as Filipinas e o Equador, países com produções de respectivamente, 24,8; 10,8; 9,2 e 7,0 milhões de toneladas de frutos por ano (FAO, 2014). Segundo dados do IBGE, a produção de banana no Brasil até o mês de agosto de 2014 foi de 7,2 milhões de toneladas, ultrapassando a de 2013 e com uma área plantada de 527,332 hectares (IBGE, 2014).

A exploração econômica da cultura no Brasil está concentrada nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul. Os principais produtores nacionais em ordem decrescente até agosto do ano de 2014 são: Bahia (1.195.601 toneladas), São Paulo (1.191.547 toneladas), Santa Catarina (705.736 toneladas), Minas Gerais (689.589 toneladas), Pará (578.212 toneladas), Ceará (489.763 toneladas), Pernambuco (404.310 toneladas), Paraná (280.800 toneladas) e Espírito Santo (266.651 toneladas), juntos

estes estados são responsáveis por mais de 80% da produção do país (IBGE, 2014).

A banana é apontada como uma das frutas mais importantes no mundo, tanto no aspecto de produção, quanto de comercialização. As potencialidades dessa fruta como cultura responsável pela geração de renda para pequenos agricultores são muitas, mas dificuldades tais como o baixo nível de organização dos produtores, a baixa adoção de tecnologias, pouco acesso à informação da cadeia produtiva, a venda sem diferenciação pela qualidade e as perdas pós-colheitas, induzem à necessidade de ações orquestradas por agentes públicos e privados (ROCHA e NOGUEIRA, 2010)

Contudo a cultura é muito acometida por pragas e outros fatores que afetam a produção e qualidade dos frutos destinados ao consumo. Além das perdas decorrentes da produção, existem as perdas pós-colheita, podendo ser devido a inúmeros fatores como o físico, fisiológico e microbiológico, onde os fungos se destacam como os mais importantes, podendo ocasionar perdas de até 40% (CORDEIRO e KIMATI, 1997; SILVA e CORDEIRO, 2000; RANGEL et al., 2002).

2.2. Antracnose

A ocorrência de fitopatógenos causadores de doenças após a colheita é um dos problemas que prejudica a qualidade e que tem limitado a exportação de frutas brasileiras, inviabilizando o transporte por períodos mais longos, assim como a aceitação do produto no seu destino final (VENTURA e HINZ, 2002).

Cerca de 80 a 90% do total de perdas em frutíferas são causadas por fungos fitopatógenos (GULLINO, 1994). No caso da banana, várias podridões de natureza fungicas podem ocorrer na fase de pós-colheita, como a podridão-da-coroa e a antracnose, sendo essa última, a principal doença que é atribuída ao fungo *Colletotrichum musae*, pertencente à classe dos fungos imperfeitos (Anamórficos), ordem Melanconiales, família Melanconiaceae (POLTRONIERI et al., 2001; THANGAMANI et al., 2011; CORDEIRO e MATOS, 2000).

A antracnose representa o mais grave problema na pós-colheita de banana e encontra-se amplamente distribuída em todas as regiões produtoras dessa fruta no mundo (WARDLAW, 1972; CORDEIRO e MATOS, 2000). Essa doença causa perdas significativas na produção, manifestando-se, principalmente, na fruta já madura. Embora a doença manifeste-se durante esse período, o problema tem início no campo, ocasião em que os conídios dispersos no ar são depositados sobre as frutas, germinam, formam os apressórios e, conseqüentemente, penetram nas mesmas (CORDEIRO e MATOS, 2000; VENTURA e HINZ, 2002; CORDEIRO, MATOS e MEISSNER FILHO, 2004).

O fungo geralmente infecta as frutas ainda verdes no campo (pré-colheita) e as infecções permanecem quiescentes até que estas entrem no início do processo de amadurecimento (GOSS e TSCHIRSCH, 1962). No estágio fisiológico de fruta verde, normalmente não há o desenvolvimento de sintomas, somente ocorre sintomas em frutas verdes quando essas são demasiadamente feridas (PLOETZ, THOMAS e SLABAUGH, 2003).

Na pós-colheita, a infecção vai se manifestando durante o período de transporte e maturação das frutas e ocasiona outras infecções, caracterizando a fase de infecção não-quiescente. Com o amadurecimento natural ou induzido das frutas, lesões escuras desenvolvem-se progressivamente tornando-se deprimidas sobre as quais em condições de altas umidade, aparecem frutificações alaranjadas de fungo. Com o progresso da doença, as lesões aumentam de tamanho, podendo coalescer, formando grandes áreas necróticas (ABAYASEKARA, RATNAYAKE e ADIKARAM, 1998; CORDEIRO e MATOS, 2000; SPONHOLZ et al., 2004; CORDEIRO, MATOS e KIMATI, 2005; CORDEIRO e MATOS, 2005).

O sintoma típico da doença é caracterizado por lesões arredondadas, grandes, necróticas e bordos ligeiramente elevados com o centro dos tecidos deprimidos, onde são produzidas massas de conídios de coloração alaranjada, podendo ocorrer uma podridão-mole nos frutos, prejudicando a sua comercialização (BAILEY et al., 1992, apud LIMA-FILHO et al., 2003).

Vários métodos para o controle da antracnose são propostos, sendo a aplicação de produtos químicos o mais promissor. Entretanto os extratos vegetais

mostram-se também eficientes para serem usados como alternativas contra microrganismos fitopatogênicos (NARUZAWA e PARA, 2011; MARTINS et al., 2012; SILVA et al., 2012).

2.3. Utilização de extratos vegetais na agricultura

Os produtos naturais até a metade do século XIX eram intensamente utilizados em comunidades tradicionais por pequenos agricultores para o controle de pragas em plantas, porém durante a Segunda Guerra Mundial as áreas de cultivo de plantas medicinais usadas como defensivos naturais foram destruídas ou abandonadas, levando a uma busca por produtos sintéticos que poderiam substituir esta prática. Assim, dava-se início a fase do uso de produtos sintéticos para o controle de pragas, o que aparentava ser a solução para a agricultura mundial (FERREIRA, 2013).

No entanto, a utilização de produtos químicos (agrotóxicos) para o controle de doenças, plantas invasoras e pragas na agricultura tem sido questionado pela sociedade atual, em decorrência dos efeitos indesejáveis causados por estes. Dentre estes efeitos encontram-se como principais os diversos danos ambientais, como contaminação dos alimentos, solo, água, animais, ar, o aumento da resistência de patógenos aos produtos e a intoxicação de agricultores (JAMAL et al., 2008; PAULA, 2006). O principal problema da utilização de agrotóxicos está relacionado, porém, ao fato desses produtos serem, muitas vezes, aplicados em doses excessivas ou de forma inadequada (BETTIOL e MORANDI, 2009).

Na busca de alternativas de controle menos agressivas, tem-se verificado que muitos extratos de plantas têm sido utilizados com sucesso no controle de pragas na agricultura (SILVA et al, 2006; JAMAL et al, 2008; SILVA et al., 2009). Outro fator que contribui para o interesse pela utilização de produtos derivados de plantas foi o avanço da agricultura orgânica e a exigência da sociedade por alimentos livres de agrotóxicos. Assim, surgiu a necessidade de resgatar a utilização de produtos naturais, produzidos a partir de substâncias extraídas de plantas, bem como a utilização do controle biológico de pragas (MORAIS, 2009).

As plantas são importantes fontes de substâncias biologicamente ativas, ou seja, substâncias que apresentam alguma atividade sobre o metabolismo de um organismo vivo. Do ponto de vista fitossanitário, os produtos naturais podem apresentar três atividades principais: antimicrobianos, com atividade direta contra os fitopatógenos, inibindo o crescimento micelial, a produção e a germinação de esporos ou a multiplicação de bactérias e outros fitopatógenos; indutores de resistência, pois contêm moléculas bioativas, capazes de induzir ou ativar os mecanismos de defesa da planta e também os chamados “bioestimulantes” do crescimento da planta (STADNIK et al., 2004).

As principais substâncias responsáveis por essa defesa e capazes de ter uma ação antimicrobiana são: alcalóides, terpenos, fenóis e derivados, flavonóides, ácidos carboxílicos e seus derivados (BOTSARIS, 1995), mas sempre há predominância de umas sobre as outras, tendo normalmente um composto majoritário (CARDOSO et al., 2000).

A utilização de compostos secundários presentes em extratos brutos ou óleos essenciais de plantas podem ser, juntamente com a indução à resistência, uma das principais formas alternativas de controle de doenças de plantas. E o grande benefício do uso desses sistemas de proteção é o largo espectro de ação destes produtos naturais, além da estabilidade e eficiência prolongada destes fungicidas naturais (LIMA et al., 2010).

Em virtude da grande diversidade e riqueza química das plantas medicinais cujos princípios ativos têm demonstrado excelente atividade bactericida e fungicida, elas tem sido consideradas fontes potenciais de moléculas que podem ser empregadas na defesa de plantas contra fitopatógenos (OLIVEIRA, 2009). Tem-se constatado, na literatura, pesquisas *in vitro* demonstrando que diversos patógenos podem ser controlados com eficiência, por meio de extratos vegetais, como o controle de *Fusarium proliferatum* por extratos de alho (*Allium sativum* L.) e capim sando (*Cymbopogon citratus*) (SOUZA et al., 2007), *Colletotrichum gloeosporioides*, por extratos de melão-de-são-caetano (*Momodica charantia* L.), eucalipto (*Eucalyptus* spp), mil folhas (*Achillea millefolium* L.) e pimenta rosa (*Schinus terebinthifolius*) (CELOTO et al., 2008; DUQUE, 2013; REBELLO, 2013).

2.4. *Eugenia astringens* Cambess

O Brasil é um dos principais centros de diversidade genética do mundo, onde se destaca as espécies frutíferas silvestres. Entretanto, muito pouco se conhece sobre a grande maioria destas espécies, muitas frutíferas nativas têm sido pouco estudadas com relação ao seu potencial para ser utilizado na agricultura em especial as espécies pertencentes à família Myrtaceae.

Uma das maiores famílias botânicas é a família das Mirtáceas, agrupando mais de 3000 espécies em aproximadamente 140 gêneros, encontra-se distribuída por todo o mundo, principalmente, em países de clima tropical e subtropical, como o Brasil (MANICA, 2002). Muitas mirtáceas apresentam um elevado valor econômico, como o eucalipto (*Eucalyptus* spp.), utilizado na produção de madeira e aromatizantes, e a Goiabeira (*Psidium guajava*), espécie frutífera nacionalmente conhecida pelas características de seus frutos, que são consumidos *in natura* ou industrializados.

Na flora brasileira existem muitas espécies nativas que também apresentam frutos comestíveis, porém com o potencial de comercialização limitado em determinadas regiões, como é o caso da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) (BEZERRA et al., 2000), das jabuticabeiras (*Plinia* spp.) e do Camu-camu (*Myrciaria dubia*) (DONADIO et al., 2002), do araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) (RASEIRA; RASEIRA, 1996), Grumixama (*Eugenia brasiliensis* Lam.) entre outras.

Segundo Manica (2002), dentre os gêneros da família Myrtaceae que englobam espécies frutíferas, apenas quatro gêneros (*Eugenia*, *Acca*, *Myrciaria* e *Psidium*) tem importância econômica.

O gênero *Eugenia*, com cerca de 1.000 espécies, é um dos maiores da família, e está distribuído, principalmente, nas Américas Central e do Sul (MERWE et al., 2005). De acordo com Landrum e Kawasaki (1997), o gênero apresenta-se distribuído desde o México e Caribe, até o norte da Argentina, com aproximadamente 350 espécies ocorrendo no Brasil. Este gênero está inserido no grupo Myrtoideae, o qual inclui todos os gêneros de espécies de Myrtaceae que apresentam frutos carnosos (Lughadha e Proença, 1996), e ao qual pertence *E.*

astringens Cambess, *E. uniflora*, *E. brasiliensis* Lam., *Myrciastes pungens*, *E. uvalha* Cambess e *E. jambolana* Lam., conhecidas como Guamirim, pitangueira, grumixama, guabijú, uvaia e Jambolã, respectivamente (MANICA, 2002).

O Guamirim (*Eugenia astringens* Cambess) é uma Myrtaceae, espécie florestal nativa ocorrente nas regiões Sudeste e Sul do Brasil, além da Bahia (SOBRAL et al., 2012). Comum na restinga ao longo de todo litoral capixaba, inclusive em áreas antropizadas. Sua ocorrência foi registrada para as formações arbustiva aberta inundável e não inundável, fechada não inundável e florestal não inundável. Ocorre também na floresta de Tabuleiro. É um arbusto ou árvore 2-15 m. Possuem folhas elípticas às vezes orbiculares, flores com ovário liso, os frutos são globos ou elíptico (Figura 1). Difere das outras espécies pelo tamanho dos lobos das sépalas com até 1 mm comprimento persistentes no fruto que, ao olhar desatento, podem ser confundidos com cicatrizes (OLIVEIRA, 2013).

Na família Myrtaceae, especialmente em várias espécies do representativo gênero *Eugenia*, relata-se a presença de ácidos triterpênicos. De acordo com a espécie da qual foram isoladas, as estruturas destes metabólitos usualmente variam entre os esqueletos ursano, oleanano e lupano, contendo normalmente um ou dois grupos hidroxilas. Os ácidos triterpênicos mono-hidroxilados (oleanólico, ursólico e betulínico) foram muito investigados no tocante ao seu amplo espectro de atividades biológicas, onde se destacam as atividades: antiinflamatória, antineoplásica, antivirótica, antimicrobiana, antiparasitária e hepatoprotetora (FRIGHETTO et al., 2005).



FIGURA 1. *Eugenia astringens* C. fotografada na restinga de Guriri, São Mateus – ES, arbusto (A) e ramos com frutos (B) (Fonte: Arquivo pessoal).

2.5. *Licania tomentosa* (Benth) Fritsch

A *Licania tomentosa* (Benth) Fritsch, uma planta que pertence à família *Chrysobalanaceae* da ordem *Rosales* e subordem *Rosiflorae*. A família dessa planta é composta por 17 gêneros e cerca de 450 espécies de hábitos arbustivos e arbóreo distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais.

A *L. tomentosa* é uma árvore de grande porte, podendo chegar a 20 m e com tronco de 30 a 50 cm de diâmetro (Figura 2). Popularmente conhecida como oiti, oiti-da-praia, oiti-cagão, oitizeiro, oiti-mirim e goiti. Esta árvore pode ser encontrada desde as florestas remanescentes do norte do Espírito Santo até nas restingas costeiras do nordeste brasileiro (Andrade *et al.*, 1998). Possui folhas simples, alternadas, elípticas lanceoladas e com face abaxial aveludada (MACHADO *et al.*, 2006).

Estudos fitoquímicos de espécies pertencentes à família *Chrysobalanaceae* demonstraram a presença de flavonóides, terpenóides (diterpenos e triterpenos), esteróides e taninos, o que incita dizer em uma possível ação antimicrobiana, antiviral e/ou antiinflamatória (CASTILHO e KAPLAN, 2008; SIMÕES *et al.*, 2007).

Embora quase todos os compostos químicos já tenham sido elucidados, pouco se sabe ainda sobre as reais propriedades terapêuticas do oiti. Estudos realizados com extratos de *Licania tomentosa*, demonstraram que esta planta possui uma considerável atividade antiviral, leishmanicida e citotóxica (MIRANDA *et al.*, 2002, DELORENZI *et al.*, 2003; FERNANDES, 2003 *apud* CASTILHO e KAPLAN, 2008).

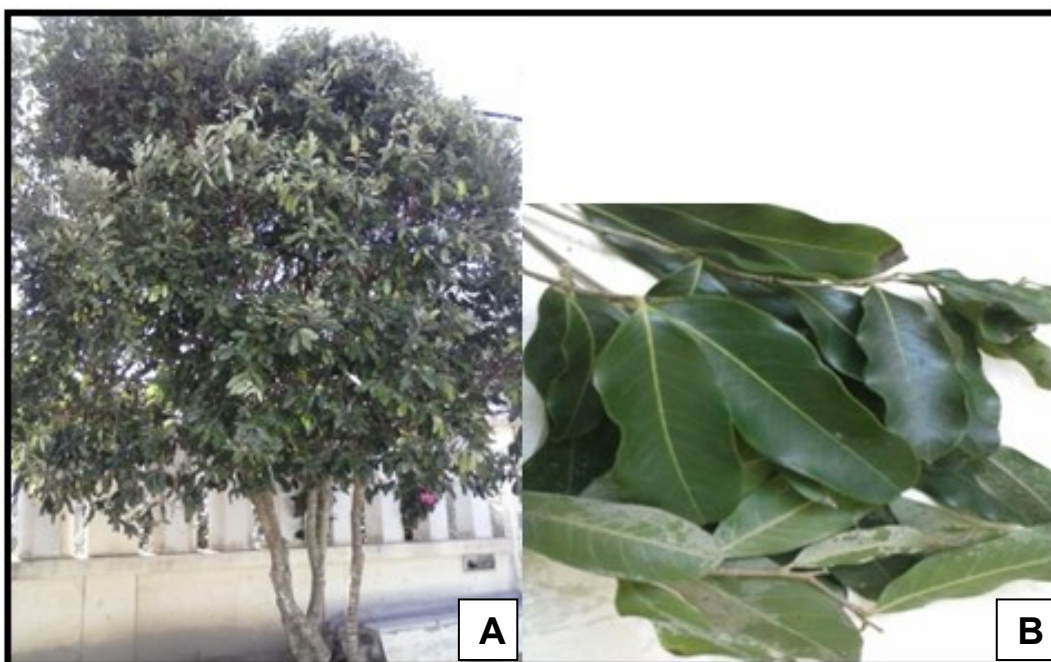


FIGURA 2. *Licania tomentosa* (Benth) Fritsch, árvore (A) e folhas (B) (Fonte: Arquivo pessoal).

2.6. *Vernonia polyanthes* Less

Vernonia polyanthes Less. pertence à família Asteraceae, sendo popularmente conhecida como assa-peixe, assa-peixe branco (Figura 3). É uma planta silvestre, comum nos Cerrados de Minas Gerais, São Paulo, Mato Grosso e Goiás (ALVES e NEVES, 2003).

Os representantes de *V. polyanthes* Less são arbustos perenes ou pequenas árvores, com ramos angulosos e densamente pilosos, que atingem em média 2,5 metros de altura, tendo folhas com disposição alternada, lanceoladas de margem serrilhada, são ásperas na face ventral e pilosa na dorsal, tendo cerca de treze centímetros de comprimento por três centímetros de largura, as inflorescências são brancas ou rosadas dispostas nos ápices dos ramos e compostas por capítulos pequenos com 10 a 15 flores reunidas (ALVES e NEVES, 2003).

A espécie tem potencial apícola (MATTOS et al., 2005) e suas folhas possuem propriedades medicinais (ANDREÃO, 1999; MATTOS et al., 2005). Entretanto, são escassas as informações sobre esta espécie, em relação ao comportamento antifúngico.



FIGURA 3. *Vernonia polyanthes* Less ramos (A) e flores (B) (Fonte: Arquivo pessoal).

3. METODOLOGIA

3.1. Material Vegetal

As folhas e sementes de *Eugenia astringens* Cambess foram coletadas no município de São Mateus, ES (18°43'44.4"S 39°44'51.7"W) em março de 2013. As folhas e flores da *Vernonia polyanthes* Less e as folhas da *Licania tomentosa* foram coletadas em julho de 2013, no horto medicinal do Centro Comunitário Franco Rossetti que fica localizado no município de Pedro Canário região norte do estado do Espírito Santo.

As espécies foram identificadas pelo botânico Augusto Giaretta de Oliveira da Universidade Federal do Espírito Santo e depositadas no Herbário Setorial VIES do Centro Universitário Norte do Espírito Santo sob o número de registro 23353 para a *Eugenia astringens* Cambess e 36006 para a *Licania tomentosa*.

3.2. Obtenção do extrato

O material foi selecionado, sendo descartadas as partes vegetais danificadas por insetos e então lavadas em água corrente, secas em estufa não ultrapassando a temperatura de 40°C, posteriormente trituradas com o auxílio de um liquidificador industrial.

O método de extração escolhido foi o de maceração na proporção de 1:10 (m/v) de solvente (etanol PA). As partes vegetais trituradas foram eluidas em etanol, onde permaneceram em processo de maceração por 8 dias. Posteriormente foi filtrado em filtração simples com auxílio de algodão e a torta submetida à

remaceração por 3 vezes. O extrato final obtido foi filtrado a vácuo e concentrado em evaporador rotativo, sob vácuo, em temperatura inferior a 40°C para eliminar o solvente.

3.3. Triagem Fitoquímica

Os extratos etanólicos obtidos das plantas por maceração foram submetidos à triagem fitoquímica descrita por Costa (1982; 1986) para detecção dos principais compostos presentes nas espécies em estudo e, a partir daí, foi analisada a atividade biológica.

Para cada tipo de metabólito secundário há reações específicas que indicam sua presença a partir de alteração ou formação de cor, espuma, fluorescência ou precipitado. Nesses testes foi avaliado a presença de flavonóides, triterpenos, esteróides, naftoquinonas, saponinas, taninos e alcalóides segundo metodologias descritas abaixo e realizados separadamente para cada tipo de extrato.

3.3.1. Determinação de Flavonóide

3.3.1.1. Reação de Cianidina

Uma pequena porção dos extratos etanólicos foi diluída e colocada em tubos de ensaios distintos. Em 1 ml de extrato etanólico diluído foi acrescentado 1 ml de HCl concentrado e fragmentos de zinco em pó. Observaram-se os resultados após a finalização da reação.

3.3.1.2. Reação de $AlCl_3$

Em cápsula de porcelana foi adicionado 1 ml de extrato diluído e 4 gotas de $AlCl_3$ a 2% em etanol. As cápsulas foram aquecidas em bico de Bunsen até completa evaporação do extrato. Posteriormente, a coloração das cápsulas foi observada em luz ultravioleta.

3.3.2. Determinação de Cumarinas

Aplicou-se, separadamente, uma gota de cada um dos extratos etanólicos diluído em um pedaço de papel filtro. Após a secagem, o papel foi exposto sob luz ultravioleta para observação de manchas fluorescentes. Posteriormente, encima de cada uma das gotas anteriormente aplicadas foi adicionada uma gota de KOH a 10%. Após a secagem, o papel foi novamente levado à luz ultravioleta para observação.

3.3.3. Determinação de Alcalóides

Em tubos de ensaios separados foi colocado 1 ml do extrato etanólico diluído e adicionado 1 ml de HCl. Posteriormente, acrescentaram-se gotas de reagente Dragendorff a fim de observar a formação de precipitado laranja.

3.3.4. Determinação de Saponinas

Dissolveu-se alguns miligramas do extrato em 5 mL de água destilada. Em seguida, dilui-se para 15 mL seguido de agitação vigorosa durante 2 minutos em tubo fechado.

O resultado era considerado positivo se a camada de espuma permanecesse estável por mais de meia hora.

3.3.5. Determinação de Esteróides e Triterpenos

Pequena porção dos extratos etanólicos foram lavados em clorofórmio, separadamente, de modo a obter 3 ml da solução clorofórmica filtrada de cada extrato. Em tubos de ensaios, adicionou ao filtrado, 2 ml de anidrido acético. Agitaram-se suavemente os tubos e posteriormente, adicionou-se 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Após a finalização da reação a coloração da mistura foi observada.

3.3.6. Determinação de Naftoquinonas

Em tubos de ensaios colocou-se, separadamente, 3 ml dos extratos etanólicos diluídos em clorofórmio. Foi adicionado 2 ml de solução de NH_4OH . Os tubos foram agitados vigorosamente deixando separar em duas fases distintas. Observou-se a coloração da camada aquosa.

3.3.7. Determinação de Fenóis e Tanino

Dissolveu-se alguns miligramas de extrato seco em 5mL de água destilada, filtrou-se quando necessário e adicionou-se uma a duas gotas de solução alcoólica de FeCl_3 a 1%.

Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativo de reação positiva, quando comparado com o teste em branco (água + Sol. de FeCl_3).

Considerou-se positivo quanto a coloração inicial variou entre azul vermelho, quanto o teste em branco foi negativo

Precipitado escuro de tonalidade azul indica presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis) e verde, presença de taninos catéquicos.

3.4. Obtenção do isolado

O fungo testado foi *Colletotrichum musae*, isolado e identificado no laboratório de fitopatologia do Programa de pós Graduação em Agricultura Tropical a partir do fruto de banana com sintomas típicos da doença, através de isolamento direto e repicagem do fungo em meio BDA (Batata Dextrose Agar) em placas de Petri. Após isolamento, as mesmas foram incubadas em B.O.D. a 25 ± 2 °C. Após o crescimento do fungo, discos de 6 mm de diâmetro do micélio foram transferidos para placas contendo BDA e incubados novamente por 7 dias (Figura 4).

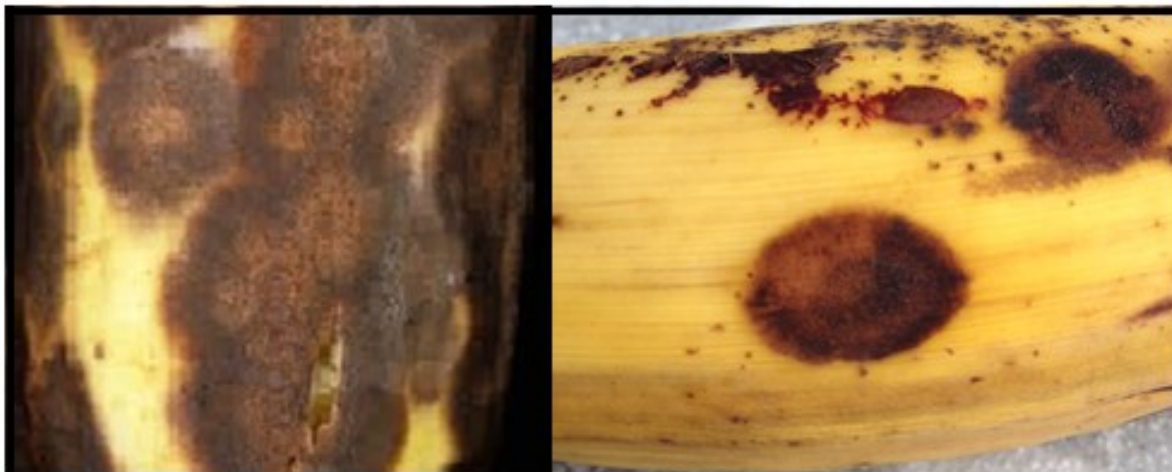


FIGURA 4. Frutos de banana com sintoma típico da doença, apresentando massa conidial rósea no centro da lesão (Fonte: Arquivo pessoal).

3.5. Ensaio antifúngicos

Para a determinação da atividade fungicida foram solubilizados 35 mg do extrato em 100 μL de etanol e água destilada estéril suficiente para 5 ml. A solução foi adicionada em 30 ml de BDA fundente estéril para obtenção da concentração de 1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. O meio de cultura foi distribuído em três placas de Petri estéreis (triplicata), onde foi transferido para o centro da placa um disco de 6 mm de diâmetro de micélio do fungo. As placas foram vedadas com filme PVC e mantidas em B.O.D. a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. Após cinco dias, o crescimento radial do fungo foi mensurado, considerando o diâmetro médio da colônia, com auxílio de uma régua milimétrica, medindo-se o diâmetro da colônia formada em dois sentidos ortogonais (Figura 5).

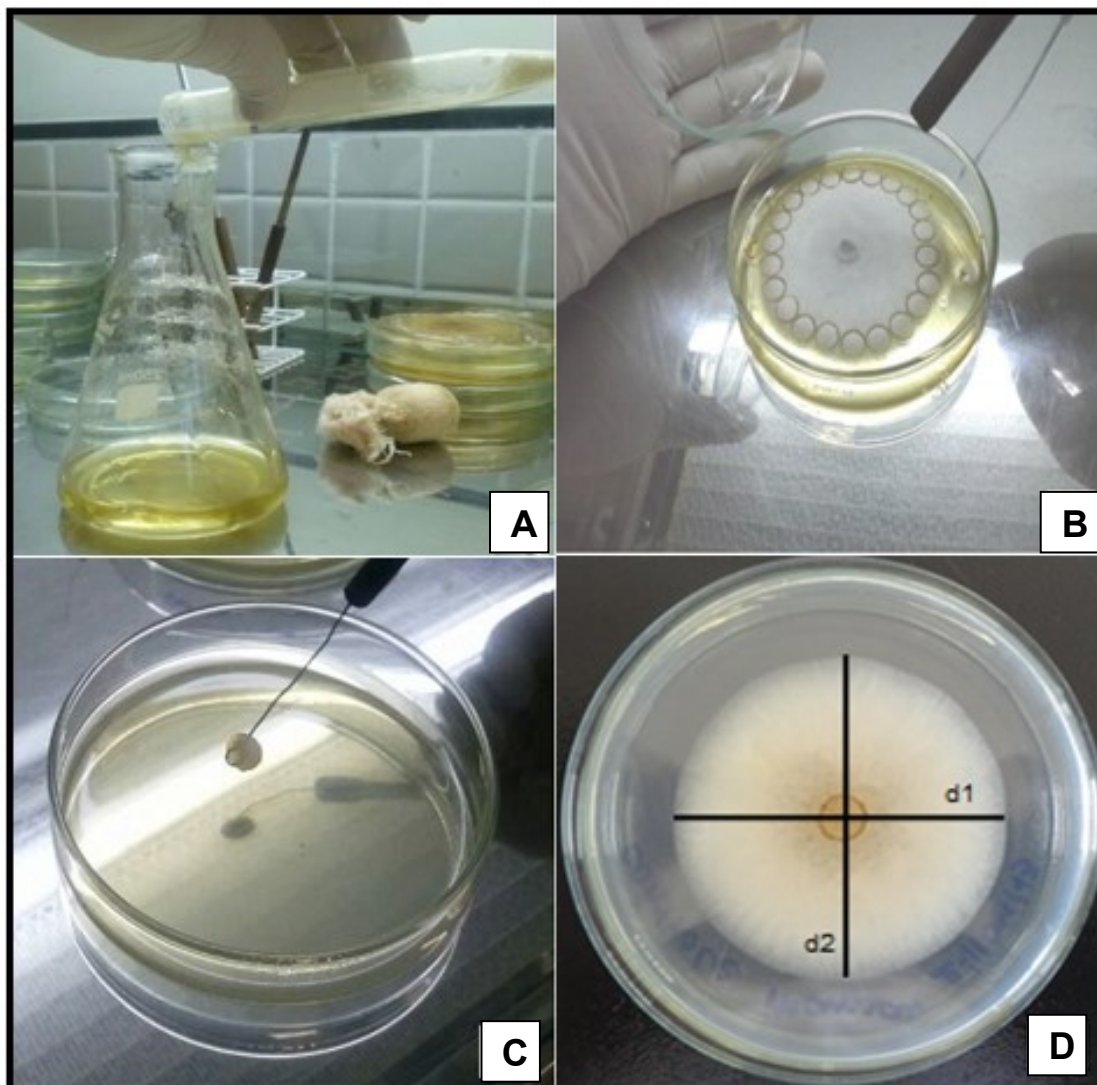


FIGURA 5. Ensaio com o fungo *C. musae*; Solubilização do extrato em meio BDA (A); Corte dos discos de micélio do fungo (B); Repicagem do disco no meio com extrato (C); Diâmetro da colônia formada (D).

Para o controle negativo foram preparadas placas de Petri com BDA acrescidos da mistura 100 μ L de etanol e quantidade suficiente de água para 5 ml. Para estas placas foram transferidos os discos de 6 mm do micélio, e incubadas de acordo com a metodologia anterior.

3.6. Análise estatística

As médias do crescimento radial em placa de petri do fungo avaliado foram comparadas utilizando o teste de Tukey com 1% de probabilidade, com auxílio do programa ASSISTAT 7.7 beta.

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

Os extratos etanólicos obtidos por maceração foram submetidos aos testes para identificação de cumarinas, terpenos, esteróides, alcalóides, fenóis e taninos, flavonóides, naftoquinonas e saponinas. Os resultados para cada Espécie e suas partes estão apresentados na Tabela 1.

Para o extrato de Assa-peixe os compostos secundários encontrados (flavonóis, fenóis e taninos, alcalóides, esteróides e terpenos e cumarinas) foram semelhantes para flor e folha. No caso do extrato de Eugenia e Oiti foram encontrados saponinas, composto este que não está presente no extrato de assa-peixe. No entanto os extratos de Eugenia não apresentam alcalóides, diferentemente do que foi encontrado nos extratos de Assa-peixe e Oiti.

TABELA 1. Classes de compostos detectados nos extratos etanólicos das espécies e suas partes.

Classes de compostos	Assa-Peixe Folha	Assa-Peixe Flor	Eugenia Semente	Eugenia Folha	Oiti folha
Saponinas	-	-	+	+	+
Naftoquinonas	-	-	-	-	-
Flavonóis	+	+	+	+	+
Fenóis e Taninos	+	+	+	+	+
Alcalóides	+	+	-	-	+
Esteróides e Terpenos	+	+	+	+	+
Cumarinas	+	+	+	+	+

Segundo COWAN (1999) e CASTILHOS et al (2007) as principais classes de metabólitos secundários de plantas com ação antimicrobiana são compostos fenólicos (fenóis simples, fenóis ácidos, quinonas, flavonóides, flavonas, flavonóis, taninos e cumarinas), terpenóides, alcalóides, lecitinas e polipeptídeos e

poliacetilenos. Este resultado condiz com o presente estudo, onde foram encontrados flavonóides, tanino, alcalóides e cumarinas, demonstrando a possível atividade antimicrobiana dos extratos obtidos (Figura 6, 7, 8 e 9).

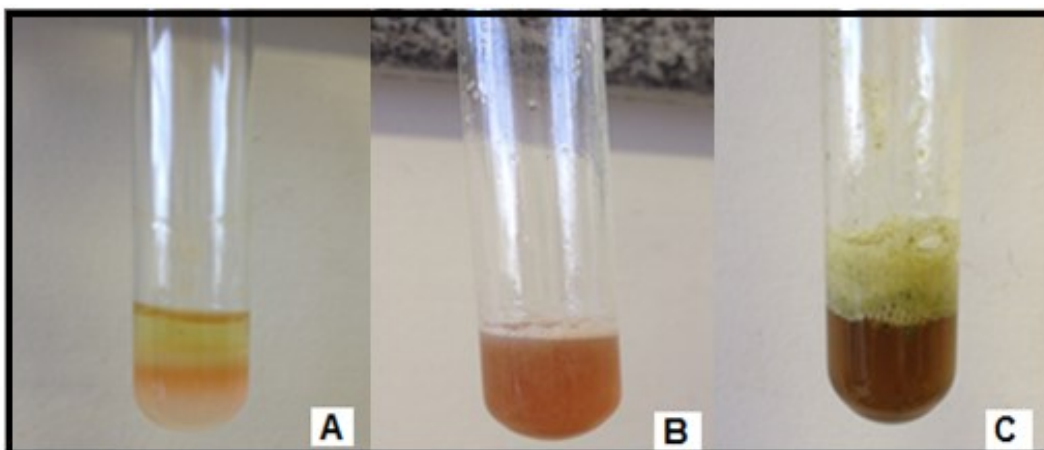


FIGURA 6. Teste para determinação de alcalóides, Assa-Peixe flor (A); Assa-Peixe folha (B); Oiti folha (C).

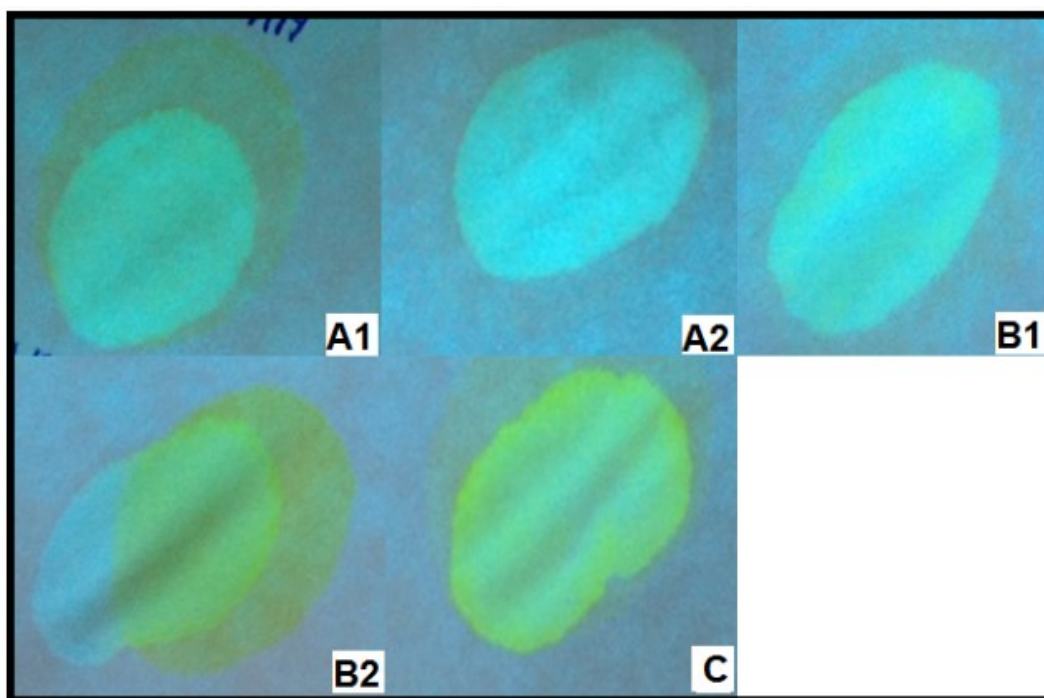


FIGURA 7. Determinação de cumarinas; Eugenia folha (A1); Eugenia semente (A2); Assa-peixe folha (B 1); Assa-folha flor (B 2); Oiti folha (C).

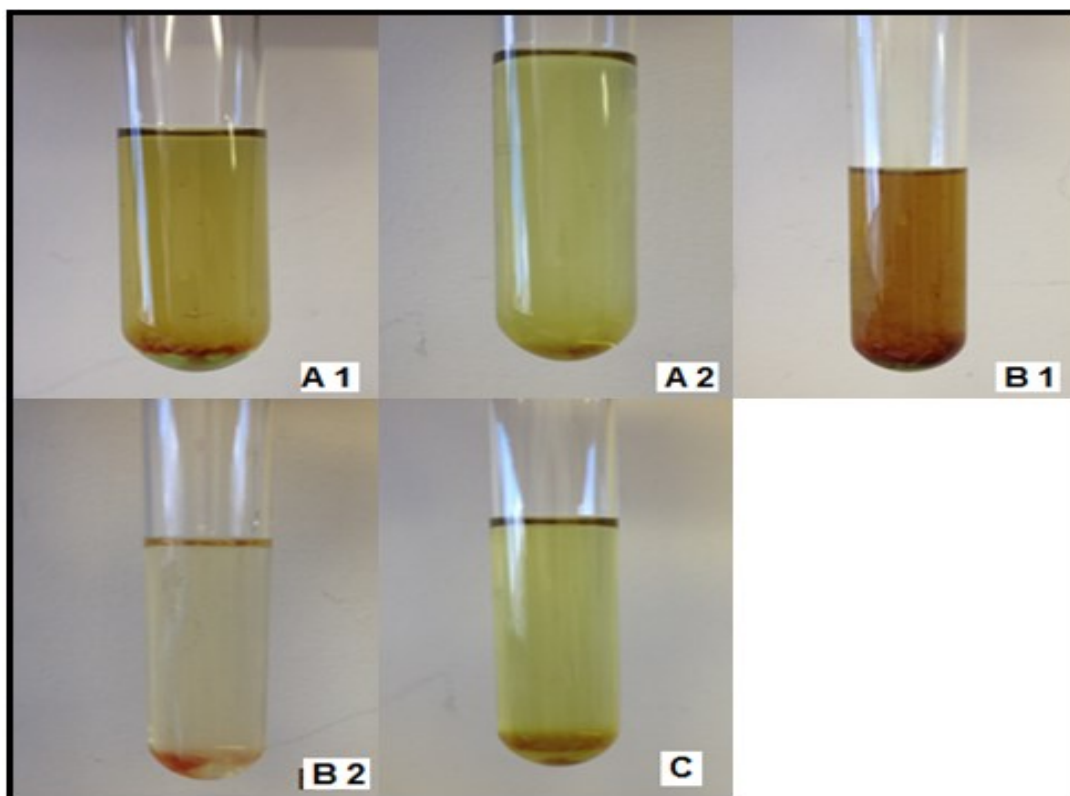


FIGURA 8. Determinação de fenóis e taninos; Eugenia folha (A1); Eugenia semente (A2); Assa-peixe folha (B 1); Assa-folha flor (B 2); Oiti folha (C);

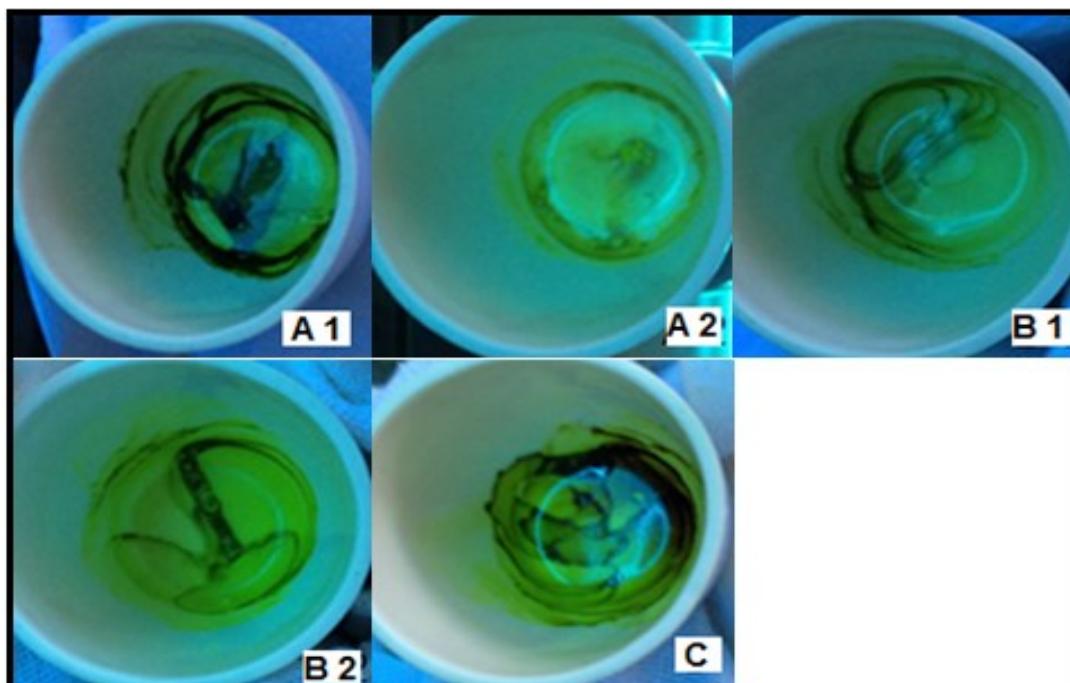


FIGURA 9. Determinação de flavonóides; Eugenia folha (A1); Eugenia Semente (A 2); Assa-peixe flor (B 1); Assa-peixe folha (B 2); Oiti folha (C).

Os taninos, presentes na pitangueira, por exemplo, possuem ação bactericida e fungicida (SIMÕES et al., 2004). Assim como os resultados

encontrados por Ogundare et al., 2006, onde mostrou que extratos da casca de *Vernonia tenoreana* inibiram o crescimento de *Candida albicans*, *Aspergillus flavus* e *A. niger*, com concentrações inibitórias mínimas (CIMs) de 15 mg/ml. Plantas estas pertencentes às mesmas famílias das utilizadas no presente estudo.

Ao avaliar o crescimento do *Colletotrichum musae* em meio BDA na presença dos extratos é possível perceber que os extratos testados têm potencial inibitório deste fungo (Tabela 2). Todos os tratamentos apresentaram diferença significativa em comparação aos controles (controle fungo e álcool etílico PA 100 µL). Demonstrando que o álcool não interferiu nos tratamentos testados.

Todavia o melhor tratamento foi com o extrato de *Licania tomentosa* (oiti) apresentando 60% de inibição micelial. O extrato de Assa-peixe folha e Assa-peixe flor não apresentaram diferença significativa, já no caso da *Eugenia* o extrato obtido com a semente obteve maior inibição do crescimento micelial em comparação com a folha.

O extrato de Oiti proporcionou melhor efeito antifúngico pelo fato de apresentar metabolitos secundários que não estão presentes nas outras plantas estudadas, a saponina que esta ausente no extrato de Assa-peixe e o alcalóide que não foi evidenciado no extrato de *Eugenia* podem ser os responsáveis pela potencialização da atividade antifúngica do extrato de Oiti.

TABELA 2. Redução de crescimento radial do fungo *Colletotrichum musae* em placas de Petri, submetidos à concentração de 1000ppm de diferentes extratos etanólicos de plantas.

Tratamento	Diâmetro Radial da Colônia Fungica (cm)	Inibição de crescimento (%)
BDA puro (Controle Negativo)	8,1 a	0
BDA + Álcool (Controle solvente)	7,91 a	0
Assa peixe Folha	4,58 b	43
Assa peixe Flor	4,4 b	45
Eugenia Folha	4,75 b	41
Eugenia Semente	4,23 bc	48
Oiti Folha	3,33 c	60

Médias seguidas pelas mesmas letras na coluna não diferem entre si pelo Teste de Turkey a 5% de probabilidade.

Em estudo realizado por Moraes (2008), onde se avaliou a atividade antifúngica do extrato etanólico de *Achillea millefolium* L. na concentração de 2000 ppm, proporcionou uma inibição de 56% do patógeno *C. musae*. Quando comparando com o presente trabalho, onde a concentração estudada foi 1000 ppm e obteve uma inibição de até 60%, é possível afirmar que o potencial antifúngico das plantas estudadas é superior a *Achillea millefolium* L.

Extrato de *Xylopia sericea* também apresentou ação inibitória do crescimento do *C. musae*, com mais de 25% de inibição no crescimento micelial. A *X. sericea* contém alta concentração de flavonóides, possibilitando inferir que a ação fungitóxica desta espécie está relacionada com a presença destes compostos (MARTINS et al., 2012).

Os compostos fenólicos possuem comprovada ação antifúngica e esta pode ocorrer, entre outros mecanismos, pela inativação de sistemas enzimáticos do microrganismo envolvidos na produção de energia e na síntese de componentes estruturais (OLIVEIRA et al., 2007).

O crescimento micelial do *C. musae* foi inibido por extrato etanólico de mil-folhas (*Achillea millefolium*), onde foram encontrados compostos fenólicos, taninos, flavonóides e cumarinas, indicando a potencialidade fungicida destes compostos contra o *C. musae* (PERES et al., 2009). Duque (2013) observou a inibição do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* na presença de frações extraídas de mil-folhas as quais a qualificação e quantificação dos compostos presentes evidenciou compostos dos grupos fenólicos simples e flavonóides (flavona, rutina).

Rebello (2013) destaca que os compostos do metabolismo secundário encontrados em folhas e casca de caule de *S. terebinthifolia*, como os alcalóides, taninos, flavonóides e saponinas, estão diretamente relacionados com os efeitos de inibição do crescimento de *C. musae* e *C. gloeosporioides*, principalmente os compostos fenólicos, como flavonóides e taninos.

Estes resultados condizem com os resultados encontrados neste estudo, inferindo a possibilidade da ação fungitóxica dos extratos testados estejam relacionada à presença dos compostos fenólicos, taninos, flavonóides e/ou cumarinas.

5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos demonstraram que as plantas testadas apresentam atividade antifúngica frente ao *C. musae*.

Os compostos do metabolismo secundário encontrados, alcalóides, taninos, flavonóides, saponinas e/ou cumarinas, estão diretamente relacionados com os efeitos biológicos encontrados.

Os extratos testados podem ser uma alternativa promissora no controle do patógeno da antracnose em de banana pós-colheita.

6. REFERÊNCIAS

ABAYASEKARA, C.; RATNAYAKE, S.; ADIKARAM, N. K. B. Resistance of banana fruit to fungal disease na overview. In: JONSON, G. J.; RIGHLEY, E.; JOYCE, D. C. (Ed.). Disease resistance in fruit. Camberra: ACIAR Procceding, n.80, 1998. P.93-104.

AGROFIT, SISTEMA DE AGROTÓXICOS FITOSSANITÁRIOS. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 10 de setembro de 2010.

ALVES, V.F.G.; NEVES, L.J. Anatomia foliar de *Vernonia polyanthes* Less. Less. (Asteraceae). **Revista Universidade Rural**, Série Ciências da Vida, Rio de Janeiro, v.22, n.2, p.01-08, 2003.

ANDRADE, E.H.A.; ZOGHBI, M.G.B.; MAIA, J.G.S. Constituintes voláteis dos frutos de *Licania tomentosa*: **Acta amazônica**, v. 28, n. 1, p. 55-58, 1998.

ANDREÃO, A. Estudo do óleo essencial de *Vernonia polyanthes* Less.. In: ENCONTRO REGIONAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA-MG, 8., **Anais...** Belo Horizonte: SBQ, 1999. p.149.

ANTHONY, S. et al. Fungal pathogens associated with banana fruit in Siri Lanka, and their treatment with essential oils. **Mycopathologia**, v.157, p.91-7, 2004.

BRASIL. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). **Anuário estatístico do Brasil**. v. 71, 2011.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pesca e Abastecimento. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários - AGROFIT**. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 10 nov. 2010.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. (Ed.). **Biocontrole de doenças de plantas**. Uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2009. 332. P

BEZERRA, J.E.F.; SILVA JUNIOR, J.F.da; LEDERMAN, I.E. **Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**. Jaboticabal: funep, 2000. 30p. (Série Frutas Nativas, 1).

BORGES, A. L.; SOUZA, L. da S.; ALVES, E. J. Exigências edafoclimáticas. In: CORDEIRO, Z. J. M. **Banana: Produção: aspectos técnicos**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 2000. (Frutas do Brasil, 1).

BOTSARIS, A. S. **Fitoterapia chinesa e plantas brasileiras**. São Paulo: Ícone, 1995. 550 p.

CARDOSO, M. G.; GAVILANES, M. L.; MARQUES M. C. S.; SHAN, A. Y. K. V.; SANTOS, B. R.; OLIVEIRA, A. C. B.; BERTOLUCCI, S. K. V.; PINTO, A. P. S. **Óleos essenciais**. Boletim Técnico, Série Extensão, Lavras, v. 8, n. 58, p. 1-42, 2000.

CASTILHO, R.O.; KAPLAN, M.A.C. Constituintes químicos de *Licania tomentosa* BENTH. (CHRYSOBALANACEAE). **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 66-69, 2008.

CASTILHOS, T. S.; GIORDANI, R. B.; HENRIQUES, A. T.; MENEZES, F. S.; ZUANAZZI, J. Â. S. Avaliação in vitro das atividades antiinflamatória, antioxidante e antimicrobiana do alcalóide montanina. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 2, p. 209-214, 2007.

CELOTO, M.I.B.; PAPA, S.F.M.; SACRAMENTO, S.U.L.; CELOTO, J.F. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.30, n.1, p.1-5, 2008.

CIMANGA, K.; APERS, S.; BRUYNE, T.; MIERT, S.V.; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J.; KAMBU, K.; TONA, L. Chemical composition and antifungal activity of essential oils of some aromatic plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Essential Oil Research**, v. 14, p.382-387, September/October, 2002.

CORDEIRO Z.J.M. & KIMATI, H. Doenças da bananeira (*Musa* sp.) In: KIMATI, H., AMORIM, L. BERGAMIM FILHO, A. CAMARGO, L.E.A. REZENDE, J.A.M. (eds.). **Manual de fitopatologia**. São Paulo: Ceres, 1997. v. 2, p.112-136.

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, & MATOS, A.P. **Doença da banana**. Informe agropecuário, 26,12-16. 2005

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; FILHO, P. E. M. Doenças e métodos de controle. In: **O cultivo da bananeira**. Embrapa, Mandioca e Fruticultura, 2004. p. 146-182.

CORDEIRO, Z. L. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira. In: KIMATI, H. *et al.* **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. v. 2, p.99-117.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Grilbenkian, 1982.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Lisboa: Fundação Calouste Grilbenkian, 1986.

COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, v.12, n.4, p.564-582, 1999.

DELORENZI, J.C.; COSTA, D.A.; CASTILHO R.O.; KAPLAN, M.A.C.; GATTASS, C.R. Activity of oleanolic acid against *Leishmania (L.) major in vitro*. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, v. 45, n. 13, p. 109, 2003.

DEL PONTE, E.M. (Ed.) **Fitopatologia.net** - herbário virtual. Departamento de Fitossanidade. Agronomia, UFRGS. Disponível na Internet: <http://www.ufrgs.br/agronomia/fitossan/herbariovirtual>. Acesso em: 02 mar 2009.

DINIZ, L. P.; MAFFIA, L. A.; DHINGRA, O. D. de; CASALI, V. W. D.; SANTOS, R. H. S.; MIZUBUTI, E. S. G. Avaliação de produtos alternativos para controle da requeima do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, n.2, p.171-179, 2006.

DI STASI, L.C. (Ed.). **Plantas medicinais: arte e ciência**. São Paulo, 1996. 215p.

DONADIO, L.C.; MÔRO, F.V.; SERVIDONE, A.A. **Frutas Brasileiras**. Jaboticabal: Novos talentos, 2002, 288p.

DUQUE, F. F. **Atividade de frações do extrato etanólico de *Achillea millefolium* sobre *Colletotrichum gloeosporioides***. 2013. 42f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Programa de Pós-graduação em Agricultura Tropical, Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus, 2013.

ESPÍRITO SANTO. Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural (INCAPER). **Incaper em Revista**. Ano 1, n. 1, 2010.

FERREIRA, E.F. **Uso de extratos vegetais no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) em mamoeiro (*carica papaya* L.)** Dissertação Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2013.

FRIGHETTO, N.; et al. Aplicação de cromatografia centrífuga de contra-corrente na purificação de ácido ursólico das folhas de *Eugenia brasiliensis* Lam. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 15, n. 4, p. 338-343, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITES NATIONS - FAO. **Database**. United States: FAO/FAOSTAT, 2014. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em: 06 out. 2014.

GACHOMO, E. W.; KOTCHONI, S. O. Extract from drought-stress leaves enhances disease resistance through induction of pathogenesis related proteins and accumulation of reactive molecules. **Biotechnology**, v.7, n.2, p.273-279, 2008.

GOMES, M.S.O. **Conservação pós-colheita: frutas e hortaliças**. Brasília: Embrapa, 1996. 130p.

GOOS, R.D. & TSCHIRSCH, M. Effect of environmental factors on spore germination, spore survival, and growth of *Gloeosporium musarum*. **Mycologia** 54:353-367. 1962.

GULLINO, M.L. Lotta biologica a funghi agenti di marciumi dela frutta in post-raccolta. **Informatore Fitopatolico** 4:5-13. 1994.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2002 Disponível em: Acesso em: 10 outub. 2014

JAMAL, C. M.; SILVEIRA, D.; RONCHI, R.; ANDRADE, M. A.; BATITUCCI, M. C.; BRASILEIRO, B. G.; SILVA, M. B. O uso de extratos vegetais no controle alternativo da podridão pós- colheita da banana. In: SIMPÓSIO NACIONAL DO CERRADO, IX, 2008, ParlaMundi. **Anais...** Brasília, DF: EMBRAPA Cerrados, 2008.p. 1-9.

LANDRUM, L.R.; KAWASAKI, M.L. 1997. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. *Brittonia* 49: 508-536.

LIMA, W.G.; MELO FILHO, P.A.; CÂMARA, M.P.S.; SANTOS, R.C. dos; CÂMARA, C.A.G. da; SILVA, A.M.; SILVA, A.M.F. da; GARCIA, A.L.; BEZERRA, C.S. **Efeito de óleos vegetais no controle de *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides***. 2010. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_3/OleosVegetais/index.htm>. Acesso em:11/10/2014

LIMA-FILHO, R. M.; OLIVEIRA, S. M. A.; MENEZES, M. Caracterização enzimática e patogenicidade cruzada de *Colletotrichum spp.* associados a doenças de pós colheita. **Fitopatologia Brasileira**. v. 28, p. 620-625, 2003.

LUGHADHA, E. N.; PROENÇA, C. 1996. A survey of reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, St. Louis, V.83, n.4, p. 480–503.

MACHADO, R.R.B.; MEUNIER, I.M.J.; SILVA, J.A.A.; CASTRO, A.A.J.F. Árvores nativas para a arborização de Teresina, Piauí. **Revista da sociedade brasileira de arborização urbana**, v. 1, n. 1, p. 10-18, 2006.

MANICA, I. **Frutas nativas, silvestres e exóticas 2: técnicas de produção e mercado: feijão, figo-da-india, fruta-pao, jaca, lichia, mangaba**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2002. 541p.

MARTINS, L. P. et al. Controle de Doenças na Pós-Colheita de Mamão Golden utilizando tratamento hidrotérmico e extrato de erva-doce. In: MARTINS, D. (Org.). **Papaya Brasil: Mercado e Inovações Tecnológicas para o Mamão**. Vitória - ES: Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, 2005, v. 1, p. 422-433.

MARTINS, F. M. M., SILVA, M. B., SILVEIRA, D., COSTA, A. S. V., JAMAL, C. M. Estudo fitoquímico e avaliação do potencial citotóxico e Antifúngico de *Xylopi sericea* ST. Hill frente à *Colletotrichum musae*. **Rev. Biologia e Farmácia**. v. 7, n. 2, p. 60-65, 2012.

MATTOS, S.; ASCENCIO, S.D.; ASCENCIO, P.G.M. Estudos parciais dos metabólicos secundários de flores e folhas da *Vernonia* sp. Less (Asteraceae). In: Congresso de iniciação científica do centro universitário luterano de Palmas, 4, **Anais...** Palmas – TO, 2005. p.455

MEDINA, M. M.; PEREIRA, M. E. C. Pós-Colheita. In: BORGES, A. L.; SOUZA, L. S. **O cultivo da bananeira**. 2004. p. 209-231.

MAQBOOL, M.; ALI, A.; RAMACHANDRAN, S. Control of postharvest anthracnose of banana using a new edible composite coating. **Crop Protection**, Peterborough, v. 29, n. 10, p. 1136-1141, 2010.

MERWE, M.M.; WYK, A.E.; BOTHA, A .M. Molecular phylogenetic analysis of *Eugenia* L. (Myrtaceae), with emphasis on southern africa taxa. **Plant. Systematic and evolution**, u. 251,n.1,p21-34,2005.

MIRANDA, M.M.F.S.; GONÇALVES, J.L.S.; ROMANOS, M.T.V.; SILVA, F.P.; PINTO, L.; SILVA, M.H.; EJZEMBERG, R.; GRANJA, L.F.Z.; WIGG, M.D. Anti-herpes simplex virus effect of a seed extract from the tropical plant *Licania tomentosa*. **Phytomedicine**, v. 9, n. 7, p. 641-645, 2002.

MORAES, S.C.S. **Achillea millefolium I – Asteraceae prospecção fitoquímica, perfil espectrométrico e atividade antifúngica**. Dissertação mestrado, Faculdade

de Ciências da Saúde da Univale, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Biológicas, Governador Valadares, MG, 2008.

MORAIS, L. A. S. de. Óleos Essenciais no Controle Fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 139-152, 2009.

NERY-SILVA, F.A.; MACHADO, J.C.; LIMA, C.O.; REZENDE, M.L.V. Controle químico da podridão peduncular de mamão causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. **Ciência e Agrotecnologia**, v.25, n.3, p.519-24, 2001.

NARUZAWA, E.S.; PAPA, M.F.S. Atividade antifúngica de extratos de plantas do Cerrado brasileiro sobre *Colletotrichum gloeosporioides* e *Corynespora cassicola*. **Rev Bras PI Med**, v.13, n.4, p.408-412, 2011.

OLIVEIRA, A.G. **Diversidade de Myrtaceae das restingas de Conceição da Barra e São Mateus, Espírito Santo, Brasil**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós graduação em Botânica, Escola Nacional de Botânica Tropical, do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro 2013.

OGUNDARE, A.O.; ADETUYI, F. C.; AKINYOSOYE, F.A. Antimicrobial activities of *Vernonia tenoreana*. **African J. Biotechnology**, v. 5, p. 1663-1668, 2006.

OLIVEIRA, M.S., DORS, G. C., SOUZA-SOARES, L. A., BADIALE-FURLONG, E. Antioxidant activity of phenolic compounds from plant extracts. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.18, n. 2, p. 267-275, 2007.

OLIVEIRA, E. S. **Extratos e óleos essenciais vegetais, microrganismos antagonistas, indutores de resistência e produtos antissépticos no controle da antracnose em banana**. 2009. 51f. Trabalho de conclusão de curso, graduação em engenharia agrônoma – Universidade Federal do Ceara. Fortaleza, 2009.

PAULA JÚNIOR, T. J. de; MORANDI, M. A. B.; ZAMBOLIM, L.; SILVA, M. B. da. Controle Alternativo de Doenças de Plantas – Histórico. In: VENEZON, M; PAULA JÚNIOR, T. J. de; PALLINI, A. (Eds.). **Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 135-162, 2005.

PERES, R. L.; MORAES, S. C. S.; CARVALHO, C. A.; NASCIMENTO, P.C.; CARVALHO, L. M.; SILVA, M. B.; RAMPELOTTO, P. H.; ROSA, M. B. *Achillea millefolium* – Asteraceae: estudo fitoquímico, espectrofotométrico e da atividade antifúngica (*Colletotrichum musae*). **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 6, n. 3, p. 81-93, 2009.

PESSOA, W.R.L.S.; OLIVEIRA, S.M.A.; DANTAS, S.A.F.; TAVARES, S.C.C. H.; SANTOS, A.M.G. Efeito da temperatura e período de molhamento sobre o desenvolvimento de lesões de *Colletotrichum musae* em banana. **Summa**

Phytopathologica, Botucatu, v.33, n.2, p.147-151, 2007. Disponível em:
<<http://www.scielo.br/pdf/sp/v33n2/a08v33n2.pdf>>. Acesso em: 05 de julho de 2010.

PESSOA, W. R. L. S.; OLIVEIRA, S. M. A. Doenças da Banana. In: OLIVEIRA *et al.*. **Patologia pós-colheita: Frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2006. p. 540-553.

POLTRONIERI, L.S.; ALBUQUERQUE, F.C.; TRINDADE, D.R.; DUARTE, M. de L.R.; POLTRONIERI, M.C.; OLIVEIRA, A.F.F. de. Doenças do mamoeiro no Estado do Pará. Belém: **Embrapa Amazônia Oriental**. 2001.

PUPO, M.S.; ALVES, E.S.S.; SANTOS, R.B.; VENTURA, J.A.; FERNANDES, P.M.B. Antifungal activity of monoterpenes against the plant pathogens *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum musae*, *Fusarium subglutinans* f.sp. *ananas*. **Applied and Environmental Microbiology submitted**, 2003.

PLOETZ, R. C.; THOMAS, J.E. SLABAUGH, W.R. Diseases of banana and plantain. In: PLOETZ, R.C. (Ed.). **Diseases of tropical fruit crops**. Florida: University of Florida (UFAS), 2003. p. 96-98.

RANGEL, A.; PENTEADO, L.A.C.; TONET, R.M. **Cultura da banana**. 2.ed. Campinas: CATI, 2002. 91p. (Boletim Técnico, 234).

RASEIRA, M, do. C.B.; RASEIRA, A. **Contribuição ao estudo do araçazeiro, *Psidium cattleianum***. Pelotas: Embrapa Clima temperado, 1996.95p.

REBELLO, L. C. **Avaliação da atividade antimicrobiana nos extratos de folha e casca de caule de *Schinus terebinthifolius* Raddi**. 2013. 53f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical) – Programa de Pós-graduação em Agricultura Tropical, Universidade Federal do Espírito Santo, São Mateus.

ROCHA, R.; NOGUEIRA, R. S. **Fruticultura – Banana Desenvolvimento Regional Sustentavel**. Editorial Banco do Brasil. Brasília, v.3, p. 9 – 46, setembro 2010.

SILVA, M.B.; COSTA, A.S.V.; RUFINI, J.C.M.; GALVÃO, E.R.; ZAMBOLIM, L. Tratamento térmico e prochloraz no controle da antracnose em pós-colheita de frutos de banana “Prata-Anã”. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.4, p.364-5, 2008.

SILVA, J. R.; CORDEIRO, Z. J. M. Fitossanidade na exportação de banana. In: Cordeiro, Z. J. M. (Org.) **Banana fitossanidade**. Brasília, DF: Embrapa – SPI, 2000. p. 9-14.

SILVA, R. A.; SOUZA, T. O.; DIAS, L. P.; ANDRADE, T. J. A. S. Ação do extrato metanólico da *Moringa oleifera* sobre o crescimento micelial de fitopatógenos, IV, 2009, Belém. **Anais...** Belém, PA: 2009. p. 1- 4.

SILVA, M. B.; ROSA, M. B.; BRASILEIRO, B. G.; ALMEIDA, V.; SILVA, C. A. Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas. In: VENEZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: Epamig/CTZM/UFV, 2006. p. 221-246.

SILVA, L. S.; TEIXEIRA, R.N.V.; SANTOS, D.I.P.; PESSOA, J.O. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o crescimento in vitro de fitopatógenos. **Revista Verde**, Mossoró, v.7, n.1, p. 80-86, 2012.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. 1102p.

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/Florianópolis: Editora da Universidade UFRGS / Editora da UFSC, 2004.

STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Eds). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. p.45-62.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.2, n.11, p.16-24, 1999.

SOBRAL, M.; PROENÇA, C.; SOUZA, M.; MAZINE, F. & LUCAS, E. 2012. **Myrtaceae**. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000171> (acesso em 30/08/2012).

SOUZA, A. E. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.6, p.465-471, 2007.

SPONHOLZ, C., BATISTA, U. G., ZAMBOLIM, L., SALOMÃO, L. C.C.; CARDOSO, A. A. Efeito do tratamento hidrotérmico e químico de frutos de banana 'Prata' no controle da antracnose em pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n. 5, p. 480-485. 2004.

TAVARES, G. M. **Controle químico e hidrotérmico da antracnose em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) na pós-colheita**. 2004. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E. de. Efeito de fungicidas no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 52-59, 2005.

THANGAMANI, P.R.; KUPPUSAMY, P.; PEERAN, M.F.; GANDHI, K.; RAGUCHANDER, T. Morphological and Physiological Characterization of *Colletotrichum musae* the Causal Organism of Banana Anthracnose. **World J. Agric. Sci.** v. 7, n. 6, 2011.

VENTUROSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; PONTIM, B.C.A.; CONUS, L.A. Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.4, p.499-505, 2010.

VENTURA, J.A.; HINZ, R.H. Controle das doenças da bananeira. In: ZAMBOLIM, L. et al. (Eds.). **Controle de doenças de plantas fruteiras**. Viçosa: UFV, 2002. v.1. p.838-938.

WARDLAW, C.W. **Diseases of the banana and of the Manila hemp plant**. MacMillan and company. 1972.

ZAMBOLIM, L., COSTA, H., VENTURA, J.A. & VALE, F.X.R. Controle de doenças em pós-colheita de frutas tropicais. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.) **Manejo integrado: fruteiras tropicais – doenças e pragas**. Viçosa. UFV. 2002. p.443- 511.