

UNIVERSIDADE ANHANGUERA-UNIDERP

ELVIA SILVIA RIZZI

**UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS FOLIARES DE *Pouteria ramiflora*
(CURRIOLA) SOBRE FUNGOS CAUSADORES DE DOENÇAS NA
AGRICULTURA**

CAMPO GRANDE – MS

2015

ELVIA SILVIA RIZZI

**UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS FOLIARES DE *Pouteria ramiflora*
(CURRIOLA) SOBRE FUNGOS CAUSADORES DE DOENÇAS NA
AGRICULTURA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional da Universidade Anhanguera-Uniderp, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional.

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. Ademir Kleber Morbeck de Oliveira

Profa. Dra. Rosemary Matias

CAMPO GRANDE – MS

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Anhanguera – Uniderp

R536u Rizzi, Elvia Silvia.
Utilização de extratos foriars de *Pouteria ramiflora* (Curriola)
sobre fungos causadores de doenças na agricultura / Elvia Silvia Rizzi.
-- Campo Grande, 2015.
82f.

Dissertação (mestrado) – Universidade Anhanguera – Uniderp,
2015.

“Orientação: Prof. Dr. Ademir Kleber Morbeck de Oliveira.”

1. Cerrado 2. Fungos 3. *Pouteria ramiflora*. 4. Fitopatógeno 5.
Extratos foliares Título.

CDD 21.ed. 581.9
632.42

FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidata: **Elvia Silvia Rizzi**

Dissertação defendida e aprovada em 23 de março de 2015 pela Banca Examinadora:



Prof. Doutor Ademir Kleber Morbeck de Oliveira (Orientador)
Ecologia



Prof. Doutor Joaquim Gorsino (Universidade Federal de Mato Grosso do Sul)
Química



Prof. Doutor. Francisco de Assis Rolim Pereira (Universidade Anhanguera Uniderp)
Agricultura

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que me apoiaram e participaram para que este trabalho fosse realizado.

Ao Prof. Dr. Ademir K. M. de Oliveira pela orientação, compreensão, confiança, oportunidade e contribuição do meu saber científico.

À Profa. Dra. Rosemary Matias pela amizade, orientações e sugestões e por seu interesse na construção desse trabalho, disponibilizando tempo e recursos, sem os quais este trabalho não seria possível.

Ao Prof. Dr. José Antônio Maior Bono pelo auxílio.

A equipe do Laboratório de Produtos Naturais pelo auxílio necessário para o bom andamento do trabalho. Karen Santos, obrigada querida, pela prontidão e sempre com um agradável sorriso no rosto. Sthefany Cruz você sempre foi um anjo, obrigada pelas ideias e toda sua ajuda.

A Ellen Capurro por toda a ajuda e carinho.

As queridas amigas do Laboratório de Pesquisa em Sistemas Ambientais e Biodiversidade: Kelly Cristina Lacerda Pereira e Ana Carolina Rosa pelo agradável convívio, pela amizade verdadeira, pela disponibilidade, conselhos e estímulos, enfim, por toda ajuda. Ao amigo José Carlos Pina pelo auxílio que foi imprescindível para a execução deste trabalho.

A minha mãe e irmãs, pela compreensão e, acima de tudo, pela paciência. Obrigada pelo cuidado, pelo amor, pelo apoio. Amo vocês.

Ao meu esposo João Anderson por estar comigo em todos os momentos, pelo carinho e amor incondicional. Amo você.

Ao meu filho Murilo, por ser o meu tesouro, a minha razão de viver, meu grande estímulo para prosseguir. Amo muito...

À Universidade Anhanguera-Uniderp e à CAPES pela concessão de bolsa.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. Resumo Geral | 6 |
| 2. General Abstract | 7 |
| 3. Introdução Geral | 8 |
| 4. Revisão de Literatura | 12 |
| 4.1. O bioma Cerrado e suas aplicações | 12 |
| 4.2. Família Sapotaceae e gênero <i>Pouteria</i> | 13 |
| 4.3. <i>Pouteria ramiflora</i> | 15 |
| 4.4. Fungos <i>Fusarium solani</i> e <i>Lasiodiplodia theobromae</i> | 16 |
| 4.5. Metabólitos Secundários | 17 |
| 5. Referências Bibliográficas | 20 |
| 6. Artigos | 34 |
| Artigo I | 34 |
| Resumo | 34 |
| Abstract | 35 |
| Introdução | 35 |
| Material e Métodos | 38 |
| Material Vegetal | 38 |
| Obtenção do extrato vegetal e partição | 38 |
| Ensaio biológico <i>in vitro</i> | 40 |
| Resultados e Discussão | 41 |
| Análise fitoquímica | 41 |
| Atividade antifúngica do extrato etanólico e frações | 44 |
| Referências Bibliográficas | 52 |
| Artigo II | 60 |
| Resumo | 60 |
| Abstract | 61 |
| Introdução | 61 |
| Material e Métodos | 64 |
| Material vegetal | 64 |
| Obtenção do extrato vegetal e partição | 64 |
| Ensaio biológico <i>in vitro</i> | 65 |
| Resultados e Discussão | 66 |
| Atividade antifúngica do extrato etanólico e frações | 68 |
| Referências Bibliográficas | 75 |
| 7. Conclusão Geral | 82 |

1. Resumo Geral

A utilização indiscriminada de agrotóxicos tem gerado problemas ao ambiente, causando a intoxicação dos agricultores e resistência de fitopatógenos; para contornar esses problemas, o uso de extratos vegetais vem sendo uma alternativa. Sendo assim, este trabalho está dentro da linha Sociedade, Ambiente e Desenvolvimento Regional Sustentável. Diante disso, esta pesquisa teve como objetivo determinar a classe de metabólitos secundários dos extratos e frações das folhas de *Pouteria ramiflora* e o potencial fungicida sobre *Fusarium solani* e *Lasiodiplodia theobromae*. Foram realizados dois experimentos com extratos das folhas de *P. ramiflora*, obtidos via maceração com etanol e parte do extrato etanólico bruto dissolvido em metanol/água e particionado sucessivamente com hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, n-butílico, além da fração extrato bruto e hidroalcóolica a partir de uma solução estoque (200 mg/100 mL) nas concentrações de 800, 1200, 1600, 2000 e 2400 µg/mL e um tratamento controle. As soluções foram testadas sobre os fungos utilizando-se os extratos em diferentes concentrações, vertidos em placas de Petri contendo um disco de 0,5 cm de diâmetro com esporos e micélio de *F. solani* e *L. theobromae*, separadamente. As placas foram incubadas em B.O.D. a temperatura de 25±2 °C e as avaliações, realizadas por meio da medição do diâmetro das colônias até atingir a borda da placa, em aproximadamente três dias. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo os tratamentos constituindo do fatorial de sete extratos/frações e seis concentrações. Para o Índice Velocidade Crescimento Micelial (IVCM) obtido, efetuou-se a Análise de Variância através dos procedimentos PROC GLM do aplicativo SAS e quando significativo, foi realizada a análise de regressão através dos procedimentos PROC REG e PROC NLIN. Conclui-se que todos os extrato/frações diminuíram o IVCM, tanto para o *L. theobromae* como para o *F. solani*, à medida que se aumentava a concentração; a melhor redução ocorreu na fração n-butanólica.

Palavras-chave: Fitopatógeno; Fitoquímica; Extratos foliares.

2. General Abstract

The indiscriminate use of pesticides has been generating problems to the environment, causing the poisoning of farmers and resistance of plant pathogens; to get round these problems, the use of plant extracts has been an alternative. Thus, this work is within the line Society, Environment and Sustainable Regional Development. Therefore, this research aims to determine the class of secondary metabolites of extracts and fractions of *Pouteria ramiflora* sheets and the potential fungicide on *Fusarium solani* and *Lasiodiplodia theobromae* in different concentrations. Two experiments were conducted with extracts from leaves of *P. ramiflora* obtained via maceration with ethanol and part of the ethanol extract dissolved in methanol / water and partitioned successively with hexane, dichloromethane, chloroform, ethyl acetate, n-butyl, beyond the fraction of rude extract and hydro methanol from a stock solution (200 mg / 100 ml) at concentrations of 800, 1200, 1600, 2000 and 2400 µg/mL and a control treatment. The solutions were tested on fungus using extracts in different concentrations, poured into Petri plates containing a 0.5 cm diameter disc of spores and mycelium of *F. solani* and *L. theobromae* separately. The plates were incubated in B.O.D. in a temperature of 25 ± 2 ° C and the assessment was done in about three days by measuring the diameter of the colonies until it reaches the edge of the board. The experimental design was completely randomized with five replications, and the treatments constituted of a factorial of seven extracts / fractions and six concentrations. For the index Mycelial Index Growth Speed (MIGS) obtained, the analysis of variance through the procedures PROC GLM of SAS application was performed and when it was significant, the regression analysis was performed using procedures PROC REG and PROC NLIN. It was concluded that for all the extracts / fractions MIGS decreased for both *L. theobromae* and to *F. solani*, as the concentration was increased; the best reduction occurred in the n-butanol fraction.

Keywords: Pathogen; Phytochemistry; Leaf extracts.

3. Introdução Geral

O aumento da produtividade agrícola realizado pela Segunda Revolução Agrícola, em meados do século XX, substituiu os sistemas rotacionais integrados com a produção animal, por sistemas especializados, com emprego de insumos industriais. Este padrão foi aprimorado após 1945 e consolidado na década de 1970 com a chamada revolução verde (AGOSTINHO, 2005).

Juntamente com o desenvolvimento da agricultura, ocorreu a necessidade de utilização de produtos químicos para o combate as pragas nas lavouras; porém, quando usados de maneira insensata e em excesso, podem possibilitar a resistência de fitopatógenos, pragas, plantas daninhas, e causar intoxicação dos agricultores (SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2003).

Dentre os fitopatógenos que limitam a produção alimentos estão os fungos, um grupo de organismos de importância econômica, que afetam diferentes culturas. No Brasil, destacam-se *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *phaseoli* (Burk.) Snyder, que ataca culturas produtoras de grãos como soja e sorgo, causando sintomas de murcha, além de podridão, morte de plântulas, aborto de flores e perda de armazenamento (MARTINS, 2005).

A espécie *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl., também é importante, pois acomete culturas como citrus (*Citrus* spp.), coqueiro (*Cocos nocifera* L.), eucalipto (*Eucalyptus* spp.), goiabeira (*Psidium guajava* L.), meloeiro (*Cucumis melo* L.), roseira (*Rosa* spp.), entre outras, sendo responsável por causar cancrios em raízes, caules e ramos, lesões em frutos, folhas e sementes, podendo levar a morte de mudas e enxertos (FREIRE *et al.*, 2004).

Porém, o uso excessivo de produtos químicos sintéticos no combate a estes organismos pode gerar contaminação e prejudicar a qualidade dos alimentos e do ambiente (TALAMINI e STADNICK, 2004).

Para contornar esta situação, o uso de extratos vegetais vem sendo uma alternativa para o controle de doenças fúngicas na agricultura (KUHN *et al.*, 2006; RODRIGUES *et al.*, 2006; CARNELOSSI *et al.*, 2009; VENTUROSOS *et al.*, 2011), por possuírem substâncias ativas tóxicas aos microrganismos fitopatogênicos, que envolvem, muitas vezes, os metabólitos secundários, que

inibem o crescimento micelial e a germinação de esporos (ROEL, 2001; SCHWAN-ESTRADA e STANGARLIM, 2005).

Estima-se que os compostos de origem vegetal produzam uma diversidade notável, que vão além dos cem mil metabólitos secundários, sendo relatados quatro mil novos compostos a cada ano (DIXON, 2001; GOMES, 2013). Essas substâncias também são conhecidas como produtos secundários ou produtos naturais; no organismo vegetal, tem distribuição mais restrita (DEWICK, 2002).

Os metabólitos secundários desempenham papéis importantes na bioquímica e fisiologia dos vegetais e na adaptação das plantas aos seus ambientes, contribuindo para que as mesmas possam ter uma boa interação com os diferentes ecossistemas (STOBIECKI *et al.*, 2003).

Os produtos secundários aumentam a probabilidade de sobrevivência de uma espécie, pois são responsáveis por diversas atividades biológicas com este fim, podendo atuar como antibióticos, antifúngicos e antivirais para proteger as plantas dos patógenos, e também apresentando atividades antigerminativas ou tóxicas para outras plantas; além disso, alguns destes metabólitos constituem importantes compostos que absorvem a luz ultravioleta, evitando que as folhas sejam danificadas (LI *et al.*, 1993).

Dentre estes produtos, os terpenos, juntamente, com os compostos fenólicos e nitrogenados, formam os principais grupos de metabólitos secundários (TAIZ e ZEIGER, 2010; GLEASON e CHOLLET, 2012), dos quais, o maior grupo são os terpenóides, que incluem, também, os triterpenos (MARASCHIN e VERPOORTE, 1999; ALVES e SANTOS, 2002), caracterizado por ser abundante e possuir inúmeros constituintes ativos, grande número de esteroides, vitamina D e colesterol, de relevante importância biológica (DI STASI, 1996).

Os compostos fenólicos apresentam atividades farmacológicas e antinutricionais e, também, inibem a oxidação lipídica, proliferação de fungos e patógenos, além de propiciar proteção contra radiação ultravioleta e defesa contra insetos mastigadores (AZIZ *et al.*, 1998; HOLLMAN e KATAN, 1998; TAIZ e ZEIGER, 2010). Esses compostos estão presentes nos vegetais na

forma livre ou ligados a açúcares (glicosídeos) e proteínas (CROFT, 1998), com os taninos e os flavonóides se destacando.

Uma grande variedade de metabólitos secundários de plantas tem compostos nitrogenados na estrutura, importantes à sua defesa; possuem nitrogênio (N) e enxofre (S), e a maioria deles é sintetizada a partir de aminoácidos comuns. Dentre eles estão os alcalóides, aminoácidos não proteicos (arginina, prolina, canavanina), glicosídeos cianogênicos, que liberam ácido cianídrico, glucosinolatos, que liberam isotiocianatos e nitrilas, toxinas e repelentes de herbívoros (FAVARIM, 2012).

Os flavonóides têm inúmeras propriedades farmacológicas, atuando sobre os diversos sistemas biológicos; dentre estes, as antocianinas são compostos exclusivos de plantas superiores, que fornecem pigmentação às plantas (RUSAK *et al.*, 2002). Já os taninos são compostos de sabor adstringente, podendo ser condensados ou hidrossolúveis, que reagem com proteínas; são usados na produção de alguns medicamentos com a função de contrair vasos e conter hemorragias; nas plantas, são utilizados contra predadores, como defesa física e química (SANTOS, 2010).

Com cerca de doze mil compostos admitidos, os alcalóides formam um grupo heterogêneo e podem ser encontrados em insetos, microrganismos, e alguns animais marinhos, mas, sobretudo, no reino vegetal (DI STASI, 1996; GLEASON e CHOLLET, 2012).

Assim sendo, os metabólitos secundários possuem características que envolvem vários artifícios fundamentais para a sobrevivência perpetuada das plantas, sendo os principais a defesa contra bactérias, fungos, vírus e herbívoros, sinalizador para agentes polinizadores e dispersores de sementes, proteção contra luz ultravioleta (UV) e estresses físicos, entre outras funções, significando uma variedade de substâncias bioativas fornecidas pelas plantas (WINK, 2010).

Diante deste cenário, o Cerrado assume importância significativa, por sua alta biodiversidade e endemismo (KLINK e MACHADO, 2005), onde são encontradas inúmeras espécies com poder medicinal, contendo substâncias vegetais com atividade antimicrobiana, nematicida, bactericida e fungicida

(RABELLO *et al.*, 2008); desta maneira, o estudo de espécies nativas se torna importante para a descoberta de novas substâncias que sejam mais eficazes no controle de determinadas espécies de fungos que se tornaram pragas ou que ameacem a produção de inúmeras culturas (WEIR *et al.*, 2004).

Dentre as espécies com valor econômico, por fornecer látex e madeira resistente, encontra-se *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk, conhecida popularmente como curriola, brasa-viva ou fruta-de-veado (LORENZI, 2002). Na medicina popular, é conhecida principalmente por sua ação anti-inflamatória e vermífuga (CONDESSA, 2011), além de também possuir ação alelopática, bactericida e fungicida (COSTA *et al.*, 2003; WILLIS, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Diante disso, esta pesquisa teve como objetivo determinar a classe de metabólitos secundários dos extratos e frações das folhas de *Pouteria ramiflora* e o seu potencial fungicida sobre *Fusarium solani* e *Lasiodiplodia theobromae*.

4. Revisão de Literatura

4.1. O bioma Cerrado e suas aplicações

O Cerrado é o segundo maior bioma Sul Americano, compreendendo uma área 2.036.448 Km², cerca de 22% do território brasileiro; neste ambiente situam-se as nascentes de algumas das maiores bacias hidrográficas da América do Sul (Amazônica/Tocantins, São Francisco e Prata), revelando um alto potencial aquífero, que beneficia sua biodiversidade (SCARIOT *et al.*, 2005).

O bioma também apresenta extrema abundância de espécies endêmicas (KLINK e MACHADO, 2005; SANTOS *et al.*, 2011); porém, grande parte de sua biodiversidade é ainda pouco estudada, o que é considerado um agravante, uma vez que esta savana tropical é a mais rica e ameaçada do planeta; por isso, o Cerrado está inserido na lista mundial dos biomas “Hotspots”, abrigando 11.627 espécies de plantas nativas catalogadas (SCARIOT *et al.*, 2005)

A província é um grande mosaico de paisagens naturais, sendo dois terços cobertos por diferentes fisionomias de savanas estacionais, sendo que a forma savânica diz respeito principalmente à estrutura e à fisionomia de um tipo particular de vegetação, havendo uma grande variação no balanço entre a quantidade de árvores e de herbáceas, formando um gradiente estrutural que vai do cerrado completamente aberto - o campo limpo, dominado por gramíneas, sem a presença dos elementos lenhosos (árvores e arbustos) - ao cerrado fechado, fisionomicamente florestal - o cerradão, com grande quantidade de árvores e aspecto florestal (*sensu lato*) (ZAPPI *et al.*, 2014).

O Cerrado é um bioma que possui recursos naturais de interesse socioeconômico para a população dessa região, que vem sendo ameaçados pelo avanço das atividades antrópicas, dificultando sua exploração como fonte alternativa de renda, alimentação e medicinal (POZO, 1997).

A utilização popular de plantas medicinais faz parte da tradição e costume das comunidades que vivem nessa região. No entanto, as plantas utilizadas pelos habitantes locais não têm ainda despertado de forma significativa o interesse da comunidade científica, se comparadas com aquelas das demais regiões, o que pode ser observado a partir da falta de dados

disponíveis sobre as características biológicas de plantas medicinais do Cerrado, que possibilitem a sua utilização sustentável (LOPEZ, 2005).

A ação farmacológica destas espécies depende da qualidade e quantidade dos metabólitos secundários e cabe às análises fitoquímicas estudar a classe de metabolitos e realizar seu isolamento, a purificação e a determinação estrutural (BRAZ-FILHO, 1994). Um estudo, quando associado a ensaios de atividade biológica, permite identificar, analisar e caracterizar frações ou substâncias bioativas presentes em uma determinada espécie. Destaca-se que, nos extratos brutos, os constituintes ativos estão normalmente em pequenas concentrações (SCHENKEL *et al.*, 2010).

A pesquisa com metabólitos secundários apresenta uma grande importância por tratar de compostos altamente bioativos, visto que muitos medicamentos têm como origem moléculas orgânicas provenientes do metabolismo secundário, principalmente de plantas (CROTEAU *et al.*, 2000; SIMÕES *et al.*, 2010). Além do interesse terapêutico, a pesquisa com esses bioativos estende-se a várias outras áreas como perfumaria, alimentícia, agrônômica, entre outras (SILVA, 2010).

Vários estudos descrevem a eficácia de extratos vegetais na inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica, tanto por sua atuação fungitóxica direta, dificultando o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas (SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2000).

Destaca-se ainda, a abordagem etnofarmacológica, que considera os usos populares e tradicionais de espécies vegetais como produto de valor medicinal. Além de representar grande parte das descobertas de novos fármacos, a etnofarmacologia reveste-se de maior importância como estratégia de seleção de espécies vegetais em países como o Brasil, onde uma grande diversidade biológica vegetal está aliada a um amplo conhecimento popular e tradicional, especialmente nos mais variados grupos étnicos e populacionais que vivem no interior ou no entorno dos biomas brasileiros, como o Cerrado (DI STASI, 2005).

Sendo assim, a busca de produtos naturais bioativos de origem vegetal ainda constitui uma via interessante sob o ponto de vista científico, tecnológico e econômico (SILVA, 2007).

4.2. Família Sapotaceae e gênero *Pouteria*

A família Sapotaceae compreende cerca de 58 gêneros e 800 espécies, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais, sendo que 12 deles, com cerca de 103 espécies, são encontrados no Brasil (MONTENEGRO *et al.*, 2006), a maioria ocorrendo nas regiões de floresta úmida, mas também encontradas em áreas com solo arenoso ou argiloso (PENNINGTON, 1990; CASTRO *et al.*, 2006) e frequentes na Amazônia, Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo (PENNINGTON, 1990).

Algumas das espécies do gênero *Pouteria* apresentam grande importância econômica, pois fornecem o látex usado na produção de goma comercial, madeira de alta qualidade, matéria-prima para especiarias e frutos comestíveis; no entanto, poucas espécies foram estudadas quanto às propriedades biológicas e composição química (MONTENEGRO *et al.*, 2006; TRIONO *et al.*, 2007).

Outras também são utilizadas na medicina popular para os mais variados fins, como, por exemplo, para combater a hanseníase (NWUDE e EBONG, 1980), febres e resfriados (GILL e AKINWUMI, 1986), malária (BHAT *et al.*, 1990) e inflamação ovariana e diabetes (PEREIRA *et al.*, 2004); além do uso na medicina popular, é utilizada, também, para o tratamento de hiperlipidemias e obesidade (SILVA, 2010).

Os estudos fitoquímicos efetuados com espécies de Sapotaceae têm revelado a ocorrência de alcalóides (YANG *et al.*, 1999), flavonóides (MARANZ *et al.*, 2003), terpenóides (MONTENEGRO, 2005) e fenilpropanóides, sendo mais comum na família Sapotaceae os triterpenos, para os quais várias atividades biológicas são relatadas (SILVA, 2007).

Além disto, para as espécies da família, são descritos a presença de compostos fenólicos, flavonóides, triterpenos, saponinas, taninos, açúcares

redutores e óleos essenciais. Com menor frequência, são encontrados alcalóides (MONTENEGRO *et al.*, 2006) e em espécies da região do Cerrado, há ocorrência de hidrocarbonetos de cadeia longa, álcoois, ácidos e ésteres (DAVID, 1993; LOPEZ, 2005; SILVA, 2007).

Dentre as classes de metabólitos secundários relatados para espécies do gênero, tais como *Pouteria campechiana* (Kunth) Baehni (MA *et al.*, 2004), *Pouteria caimito* (Ruiz e Pav.) Radlk. (CANUTO *et al.*, 2010), e *Pouteria gardneriana* (A.DC.) Radlk. (ROCHA *et al.*, 2011), estão os compostos fenólicos, sendo um de seus compostos bioativos, os flavonóides, comum em espécies do gênero (SILVA *et al.*, 2009). Essa classe de metabólitos secundários contribui com diversos efeitos farmacológicos. Estudos indicam que algumas espécies possuem atividades antitumoral (SUFFNESS *et al.*, 1988; COUTINHO *et al.*, 2009), analgésica (PAL e NANDY, 1999), antibacteriana e antifúngica (OGUNWANDE *et al.*, 2001), antipirética, anti-inflamatório e anti-ulcerogênico (FALCÃO *et al.*, 2005; COUTINHO *et al.*, 2009; FONTES JUNIOR, 2009) e tripanossomicida (MUELAS-SERRANO *et al.*, 2000). Além disso, foi descrita ação antioxidante para o extrato etanólico de *P. ramiflora* (CONDESSA, 2011).

As espécies do gênero *Pouteria* também são avaliadas como fonte de enzimas, utilizadas como reagentes para a síntese de diferentes produtos, bem como, para fins de atividade biológica (LOTT e JACKES, 2001; SOLIS *et al.*, 2004; HERNANDEZ *et al.*, 2006).

4.3. *Pouteria ramiflora*

A espécie *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. é uma árvore que alcança 15 a 30 m de altura, distribuída ao norte na região Amazônica, à oeste para a Bolívia e no Centro-Sul do Brasil, com um pequeno registro no Paraguai (PENNINGTON, 1990). É conhecida popularmente como curriola, figo do cerrado, brasa-viva ou fruta-de-veado, grão-de-galo, maçaranduba, guajara, mandapuça e pitomba-de-leite (LORENZI, 2002; COELHO *et al.*, 2009).

Possui diversas aplicações econômicas na construção civil e também é indicada para plantio em áreas de preservação permanente, por apresentar

crescimento moderado e adaptação a lugares abertos (LORENZI, 2002). NUNES (2006) também indicaram esta arbórea, dentre 20 espécies nativas do Cerrado, para a vegetação de áreas degradadas nesse bioma.

Além do uso na medicina popular, é utilizada para o tratamento de hiperlipidemias e obesidade (SILVA, 2010) e o extrato etanólico das folhas, de acordo com SILVA *et al.* (2006), apresentaram inibição da germinação de *Lactuca sativa*. Recentemente, OLIVEIRA *et al.* (2014) constaram que o extrato aquoso e etanólico das partes externa e interna das cascas de *P. ramiflora*, em diferentes concentrações interferiram negativamente no crescimento das plântulas de alface, indicando efeito alelopático, atividade provavelmente devido a presença dos compostos fenólicos, taninos, antraquinonas livres, esteróides, triterpenos e cumarinas.

O extrato etanólico, tanto do córtex quanto do cerne da raiz, inibiu o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, tendo ação antifúngica (RABELLO *et al.*, 2008). Este fungo provoca danos à agricultura e é responsável pela doença chamada popularmente de mofo-branco, que atinge mais de 400 espécies de plantas, entre elas, soja, feijão e algodão (LOBO JÚNIOR, 2010); estas informações indicam que esta espécie possui potencial fungicida.

4.4. Fungos *Fusarium solani* e *Lasiodiplodia theobromae*

Fusarium solani (Mart.) Sacc. (sinonímia de: *Haematonectria haematococca* (Berk. e Broome) Samuels e Rossman) é um fungo do Filo Ascomycota, que sobrevive próximo às raízes e sobre matéria orgânica, com as hifas penetrando diretamente ou através de ferimentos e aberturas naturais no sistema radicular; o fungo pode ser disseminado pelo vento, água e implementos agrícolas e as condições favoráveis para seu desenvolvimento são temperaturas amenas e solos com excesso de umidade, com a doença se agravando em solos compactados e ácidos, o que causa, principalmente, podridão radicular e lesões em caules das plantas (ervilha, feijão e soja) através da liberação de enzimas e toxinas (KIMATI *et al.*, 2005).

Esta espécie de fungo também acomete o cultivo do feijoeiro, com o

tecido vascular do caule tornando-se avermelhado a castanho-avermelhado, sem margem definida, levando ao tombamento e podridão radicular; a temperatura favorável ao seu desenvolvimento é de 18 a 22 °C, em solos com umidade elevada e compactado (FURLAN, 2004).

Já o fungo *Lasiodiplodia theobromae* (Patouillard) Griffon & Maublanc (sinonímia: *Botryodiplodia theobromae* Pat.), vem se estabelecendo como problema em diversas culturas (FREIRE *et al.*, 2004).

Segundo PUNITHALINGAM (1980), esse fungo atinge mais de 500 espécies de plantas em regiões tropicais. Pode acarretar inúmeros sintomas nas plantas infectadas, como na haste principal, na região do colo, induzindo uma podridão seca deprimida na forma de lesão pardo-escura a negra; com o avanço da doença, a lesão termina por anelar toda a haste, aprofundando-se para o lenho e danificando os vasos, causando reflexos na parte aérea, como murcha, amarelecimento e seca da folhagem e, por fim, morte da planta; os frutos sofrem podridão seca que se exterioriza na forma de lesões pronunciadas, negras, deprimidas e de contornos irregulares (KIMATI *et al.*, 2005; BLUM *et al.*, 2006).

Dentre os patógenos causadores de doenças pós-colheita em frutos, *L. theobromae* é considerado um dos mais eficientes, atingindo espécies como o abacateiro, citros, coqueiro, eucalipto, jaqueira, mandioca, fícus ornamental, meloeiro, figueira, mangueira, oiticica, goiabeira, mamoeiro, roseira, sapotizeiro e videira (FREIRE *et al.*, 2004).

4.5 Metabólitos secundários

As plantas possuem mecanismos de defesa mecânicos, fenológicos e químicos. Nas defesas mecânicas encontram-se a formação de espinhos, folhas coriáceas e a presença de tricomas. Entre os mecanismos de defesa fenológicos pode-se citar o ajuste do ciclo biológico para evitar situações de estresse ambiental ou quando os herbívoros estiverem mais ativos. Por último, a defesa química está representada pelos compostos de origem secundária que atuam em resposta a estresses ocasionados às plantas (OLIVEROS-BASTIDA, 2008).

Os produtos secundários têm um papel importante na adaptação das plantas aos seus ambientes, pois essas moléculas contribuem para que as mesmas possam ter uma boa interação com os diferentes ecossistemas (AERTS *et al.*, 1991; HARBORNE, 1994); de modo geral, metabólitos são definidos como o conjunto total das transformações das moléculas orgânicas, catalisadas por enzimas, que ocorrem nas células vivas, suprindo o organismo de energia e renovando suas moléculas (MARZZOCO e TORRES, 2007).

A grande diversidade de estruturas químicas das plantas correspondentes aos metabólitos secundários pode ser sintetizada através da combinação de vários blocos de construção do mesmo tipo ou diferentes, que dificultam herbívoros e patógenos em desenvolver resistência para tais produtos complexos (DIXON, 2001; PIETERS e VLIETINCK, 2005; WINK, 2010).

Os metabólitos secundários dos vegetais podem ser divididos em três grupos quimicamente distintos: terpenos; compostos fenólicos e compostos contendo nitrogênio. Os terpenóides constituem a maior classe de produtos secundários, geralmente insolúveis em água; atuam como toxinas e repelentes para muitos insetos e mamíferos herbívoros; são chamados de isoprenóides, pois, se decompõe em altas temperaturas (SHAHIDI e NACZK, 2003; SHAHIDI e HO, 2005; TAIZ e ZEIGER, 2010).

Os monoterpenos, por serem substâncias voláteis, são denominados óleos essenciais ou essências, com função de atrair polinizadores ou repelir insetos; na indústria são usados em sabores e perfumes. Entre o primeiro grupo estão o limoneno e o mentol, os quais possuem cheiro agradável. Um exemplo clássico do segundo grupo são os piretroides (inseticidas naturais) (SILVA *et al.*, 2002; PEIXOTO *et al.*, 2008; LUMMISS *et al.*, 2012).

Muitos sesquiterpenoides também são voláteis e estão envolvidos na defesa da planta contra patógenos, atuando como fitoalexinas, um antibiótico produzido pelas plantas em resposta a infecções microbianas. Também atuam como defensivos que desencorajam os herbívoros oportunistas a realizarem o ataque (VIZZOTTO *et al.*, 2010).

Os diterpenos têm a giberelina como principal representante e é um

importante hormônio vegetal, responsável pela germinação de sementes, alongamento caulinar e expansão dos frutos de muitas espécies vegetais. Neste grupo ainda se encontra uma série de metabólitos importantes farmacologicamente, incluindo o taxol, um agente anticancerígeno (HANSON, 2009).

As saponinas são uma classe importante de triterpenos sintetizados por uma enorme variedade de plantas; possuem uma estrutura anfipática formada por resíduos hidrofílicos de açúcares ligados a uma aglicona hidrofóbica e desempenham um importante papel na defesa contra insetos e microrganismos (CHANDEL e RASGOTI, 1980; LACAILLE-DUBOIS e WAGNER, 1996).

Os compostos fenólicos formam um grupo de compostos que não são apenas atrativos para o homem, mas também para outros animais, os quais são atraídos para polinização ou dispersão de sementes; além disso, eles também protegem os tecidos da planta contra injúria, insetos e ataque de animais. São classificados como: ácidos fenólicos e flavonóides, que podem ser divididos em flavonas, flavanonas, flavonols, flavanonols, isoflavonas, catequinas, antocianidinas, estilbenos, lignanas e taninos (SHAHIDI e HO, 2005).

Os alcalóides são compostos orgânicos cíclicos que possuem pelo menos um átomo de nitrogênio no seu anel. Essa classe de compostos do metabolismo secundário é famosa pela presença de substâncias que possuem acentuado efeito no sistema nervoso, sendo muitas delas largamente utilizadas como venenos ou alucinógenos. Alguns alcalóides não são derivados de aminoácidos e sim de uma base nitrogenada. Esse é o caso da cafeína, uma xantina produzida a partir de uma purina (PINTO *et al.*, 2002)

5. Referências Bibliográficas

AERTS, R. J.; SNOEIJER, W.; VAN DER MEIJDEN, E.; VERPOORTE, R. Allelopathic inhibition of seed germination by Cinchona alkaloids? **Phytochemistry**, Jena, v. 30, n. 9, p. 2947-2951, 1991.

AGOSTINHO, F. D. R. **Uso de análise energética e sistema de informações geográficas no estudo de pequenas propriedades agrícolas**. 2005. 226f. Dissertação (Laboratório de Engenharia Ecológica e Informática Aplicada - LEIA) - Faculdade de Engenharia de Alimentos - FEA, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Campinas.

ALVES, S. M.; SANTOS, L. S. Natureza química dos agentes alelopáticos. In: SOUZA FILHO, A. P. S.; ALVES, S. M. (Eds). **Alelopatia: princípios básicos e aspectos gerais**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002. p. 25-47.

AZIZ, N. H.; FARAG, S. E.; MOUSA, L.A.; ABO-ZAID, M. A. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. **Microbios**, Nasr City, v. 93, n. 374, p. 43-54, 1998.

BHAT, R. B.; ETERJERE, E. O.; OLADIPO, V. T. Ethnobotanical studies from Central Nigeria. **Economic Botany**, New York, v. 44, n. 3, p. 382-390, 1990.

BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESGI, C. H. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. 1ed. Brasília: Otimismo, 2006. 265p.

BRAZ-FILHO, R. Química de produtos naturais: importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 17, n. 5, p. 405-445, 1994.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e correlação com a sua atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**,

Jaboticabal, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CARNELOSSI, P. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; ITARO, A. T.; MESQUINI, R. M. Óleos essenciais no controle pós-colheita de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v. 11, n. 4, p. 399-406, 2009.

CASTRO, P. R. C.; TAVARES, S.; PITELLI, A. M. C. M.; PEREIRA, M. A. Bioativador na agricultura. In: Congresso da sociedade botânica de São Paulo, 16, 2006, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Universidade Metodista de Piracicaba, 2006. 1p.

COELHO, A. A. M.; PAULA, J. E.; ESPÍNDOLA, L. S. Efeito de extratos de plantas do Cerrado em *Dipetalogaster maxima* (Uhler) (Hemiptera, Reduviidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, São Paulo, v. 53, n. 3, p. 444-451, 2009.

CONDESSA, M. B. **Avaliação da atividade antioxidante e alelopática de plantas medicinais**. 2011. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde), Universidade de Brasília, Brasília.

COSTA, A. F.; SILVA, G. F.; ESCUDERO, M. C. Estudo comparativo entre produtos químicos preservantes e licores pirolenhosos na inibição de fungos emboloradores. **Brasil Florestal**, Brasília, v. 21, n. 75, p. 23-30, 2003.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonóides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, Niterói, v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

CHANDEL, R. S.; RASTOGI, R. P. Triterpenoid saponins and sapogenins: 1973–1978. **Phytochemistry**, Lucknow, v.19, n. 9, p.1889-1908, 1980.

CROFT, K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic

acids. **Annals of the New York Academy of Science**, Perth, v. 854, p. 435-442, 1998.

CROTEAU, R.; KUTCHAN, T. M.; LEWIS, N. G. Natural products (secondary metabolites). In: BUCHANAN, B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. (Eds). **Biochemistry and molecular biology of plants**. 1ed. Rockville: American Society of Plant Biologists, 2000. p. 1250-1318.

DAVID, V. **Aplicação de técnicas cromatográficas na separação e determinação de triterpenos e hidrocarbonetos presentes nas folhas, frutos e xilopódio de *Pouteria torta***. 1993. 97f. Dissertação (Mestrado em Química). Universidade de São Carlos, São Carlos.

DEWICK, M. P. **Medicinal Natural Products: A Biosynthetic Approach**. 2ed. Chichester: John Wiley & Sons Ltd. 2002. 550p.

DI STASI, L. C. Química de produtos naturais: principais constituintes ativos. In: DI STASI, L. C. (Org.). **Plantas medicinais: arte e ciência**. São Paulo: Editora UNESP, 1996. 230p.

DI STASI, L. C. An integrated approach to identification and conservation of medicinal plants in the tropical forest – a Brazilian experience. **Plant genetic resources characterization and utilization**, Cambridge, v. 3, n. 2, p. 199-205, 2005.

DIXON, R. A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, Ardmore, v. 411, n. 6839, p. 843-847, 2001.

FALCÃO, H. S.; LIMA, I. O.; SANTOS, V. L.; DANTAS, H. F.; DINIZ, M. F. F. M.; BARBOSA-FILHO, J. M.; BATISTA, L. M. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 15, n. 4, p. 381-391, 2005.

FAVARIM, J. L. **Nutrição e defesa aos agentes bióticos**. Piracicaba: USP/ESALQ - Departamento de Produção Vegetal, 2012. 36p.

FONTES JUNIOR, E. A.; SOUZA, P. J. C.; NASCIMENTO, J. L. M.; SANTOS, S. N.; ESPÍNDOLA, L. S.; FERREIRA, V. M. M. Antinociceptive and antiinflammatory properties of the ethanolic extract of *Pouteria ramiflora* roots. **Latin American Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v. 28, n. 6, p. 812-818, 2009.

FREIRE, F. C. O.; VIANA, F. M. P.; CARDOSO, J. F.; SANTOS, A. A. **Novos hospedeiros do fungo *Lasiodiplodia theobromae* no Estado do Ceará**. Comunicado Técnico, 91. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2004. 6p.

FURLAN, S. H. **Doenças bióticas e abióticas do feijoeiro: guia de identificação e controle**. Campinas: Instituto Biológico, 2004. 91p.

GILL, L. S.; AKINWUMI, C. Nigerian folk medicine: practices and beliefs of the undo people. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 18, n. 3, p. 259-266, 1986.

GOMES, A. S. **Atividade fitotóxica de extratos foliares de *Pouteria torta* (Mart.) Radlk.** 2013. 80f. Dissertação (Pós-Graduação em Botânica), Universidade de Brasília, Brasília.

GLEASON, K. F.; CHOLLET, R. **Plant biochemistry**. 1ed. Sudbury: Jones & Bartlett Learning, 2012. 240p.

HANSON, J. R. Diterpenoids. **Natural Product Reports**. Brighton, v. 26, n. 9, p. 1156-1171, 2009.

HARBORNE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. 4ed. London:

Academic Press, 1994. 384p.

HOLLMAN, P. C.; KATAN, M. B. Bioavailability and health effects of dietary flavonols in man. **Archives Toxicology Supplement**, Wageningen, v. 20, p. 237-248, 1998.

HERNANDEZ, L.; LUNA, H.; SOLIS, A.; VAZQUEZ, A. Application of crude preparations of leaves from food plants for the formation of cyanohydrins with high enantiomeric excesses. **Tetrahedron Asymmetry**, Oxford, v. 17, n. 19, p. 2813-2816, 2006.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. 663p.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 707-713, 2005.

KUHN, O. J.; PORTZ, R. L.; STANGARLIN, J. R.; DEL ÁGUILA, R. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; FRANZENER, G. Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa*) em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Semina. Ciência Agrária**, Londrina, v. 27, n. 1, p. 13-20, 2006.

LACAILLE-DUBOIS, M. A.; WAGNER, H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. **Phytomedicine**, Dijon, v. 2, n. 4, p. 363-386, 1996.

LI, J.; OU-LEE, T. M.; RABA, R.; AMUNDSON, R. G.; LAST, R. L. *Arabidopsis* mutants are hypersensitive to UV-B radiation. **The Plant Cell**, New York, v. 5, n. 2, p. 171-179. 1993.

LOBO JUNIOR, M. Mofo branco – *Sclerotinia sclerotiorum*. **Boletim Passarela**

da Soja. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, v. 2, n. 2, p. 12. 2010.

LOPEZ, K. S. E. **Estudo químico e atividade biológica de *Pouteria torta* (Mart.) Radlk. (Sapotaceae)**. 2005. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, Brasília.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 5ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, v. 1, 2002. 392p.

LOTT, R. H.; JACKES, B. R. Isozyme analysis of rain forest plants using immature seeds. **Biotropica**, Washington, v. 33, n. 1, p. 197-204, 2001.

LUMMISS, J. A. M.; KELLEY, C.; OLIVEIRA, K. C.; PRANCKEVICIUS, A. M. T.; SANTOS, A. G.; SANTOS, E. N.; FOGG, D. E. Chemical plants: high-value molecules from essential oils. **Journal of the American Chemical Society**, Ottawa, v. 134, n. 46, p. 18889–18891, 2012.

MA, J.; YANG, H.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Analysis of polyphenolic antioxidants from the fruits of three *Pouteria* species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Davis, v. 52, n. 19, p. 5873-5872, 2004.

MARANZ, S.; WIESMAN, Z.; GARTI, N. Phenolic constituents of Shea (*Vitellaria paradoxa*) kernels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 21, p. 6268-6273, 2003.

MARASCHIN, M.; VERPOORTE, R. Engenharia do metabolismo secundário. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, v. 2, n. 10, p. 24-28, 1999.

MARTINS, M. K. **Variabilidade genética de isolados de *Fusarium* spp. e**

estudo da interação com a planta hospedeira. 2005. 110f. Tese de Doutorado (Genética e melhoramento de planta) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B. **Bioquímica básica.** 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 736p.

MONTENEGRO, L. H. M. **Estudo químico e ensaios biológicos preliminares de *Pouteria venosa* (Mart.) Baehni e revisão dos terpenóides e das atividades biológicas de espécies de Sapotaceae.** 2005. 141f. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal de Alagoas, Maceió.

MONTENEGRO, L. H. M.; OLIVEIRA, P. E. S.; CONSERVA, L. M.; ROCHAM, E. M. M.; BRITO, A. C.; ARAÚJO, R. M. TREVISAN, M. T. S.; LEMOS, R. P. L. Terpenóides e avaliação do potencial antimalárico, larvicida, anti-radicalar e anticolinesterásico de *Pouteria venosa* (Sapotaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 16, (supl.), p. 611-617, 2006.

MUELAS-SERRANO, S.; NOGAL, J.; MARTINEZ-DIAZ, R.; ESCARIO, J.; MARTINEZ-FERNANDEZ, A.; GOMES-BARRIO, A. *In vitro* screening plant extracts on *Trypanosoma cruzi* and *Trichomonas vaginalis*. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 71, n. 1-2, p. 101-107, 2000.

NUNES, M. F. S. Q. C. O papel da regeneração natural na recuperação de áreas degradadas. In: GARAY, I.; BECKER, B. K. (Eds.). **Dimensões humanas da biodiversidade.** Petrópolis: Vozes, 2006. p. 341-351.

NWUDE, N.; EBONG, O. O. Some plants used in the treatment of leprosy in Africa. **Leprosy Review**, London, v. 51, n. 1, p. 11-18, 1980.

OGUNWANDE, I.; BELLO, M.; OLAWIRE, O.; MUILI, K. Phytochemical and antimicrobial studies on *Butyrospermum paradoxum*. **Fitoterapia**, Milano, v. 72,

n. 1, p. 54-56, 2001.

OLIVEIRA, A. K. M.; PEREIRA, K. C. L.; MULLER, J. A. I.; MATIAS, R. Análise fitoquímica e potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 32, n. 1, p. 41-47, 2014.

OLIVEROS-BASTIDAS, A. J. El fenómeno alelopático. El concepto, las estrategias de estudio y su aplicación en la búsqueda de herbicidas naturales. **Química Viva**, Buenos Aires, v. 7, n. 1, p. 2-34, 2008.

PAL, S.; NANDY, A. Antiinflammatory, analgesic and antipyretic of *Achras sapota* Linn. Leaf extracts and its isolated compounds. **Indian Drugs**, Mumbai, v. 36, n. 2, p. 106-114, 1999.

PEIXOTO, A. F.; MELO, D. S.; FERNANDES, T. F.; FONSECA, Y.; GUSEVSKAYA, E. V.; SILVA, A. M. S.; CONTRERAS, R. R.; REYES, M.; USUBILLAGA, A.; SANTOS, E. N.; PEREIRA, M. M.; BAYÓN, J. C. Rhodium catalyzed hydroformylation of kaurane derivatives: A route to new diterpenes with potential bioactivity. **Applied Catalysis A: General**, Coimbra, v. 340, p. 212-219, 2008.

PENNINGTON, T. D. **Sapotaceae. Flora Neotropica Monograph**. New York: The New York Botanical Gardens, v. 52, 1990. 770p.

PEREIRA, R. C.; OLIVEIRA, M. T. R.; LEMOS, G. C. S. Plantas utilizadas como medicinais no município de Campos de Goytacazes–RJ. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 14 (Supl. 1), p. 37-40, 2004.

PIETERS, L.; VLIETINCK, A. J. Bioguided isolation of pharmacologically active plant components, still a valuable strategy for the finding of new lead

compounds? **Journal of Ethnopharmacology**, Antwerp, v. 100, n. 1-2, p. 57-60, 2005.

PINTO, Â. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. A. Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, Supl.1, p. 45-61, 2002.

POZO, O. V. C. **O pequi (*Caryocar brasiliense*). Uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do Cerrado no norte de Minas Gerais**. 1997. 100f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PUNITHALINGAM, E. **Plant diseases attributed to *Botryodiplodia theobromae***. Vaduz: Pat. J. Cramer, 1980. 123p.

RABELLO, A. R.; SILVA, M. S.; ALVES, R. S.; ESPÍNDOLA, L. S.; SILVA, E. M.; DE PAULA, J. E.; LIMA, T. R.; VIEIRA, E. A.; ANJOS, J. R. N. Gênero *Pouteria* de plantas nativas do Cerrado, da família do “Sapotí” (Sapotaceae), produz princípios ativos na raiz contra crescimento micelial *in vitro* de fungos patógenos de soja. *In*: Simpósio Nacional Cerrado, Parla Mundi, Brasília, DF, 9, 12 a 17 out. 2008. **Desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais**. Brasília: Embrapa Cerrados. 2008. p. 1-7.

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P.; AGOSTINI-COSTA, T. D. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p.1215-1221, 2011.

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; TUTIDA-FIORI, A. C. G. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto *in vitro* e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 1-5, 2006.

ROEL, A. R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, Campo Grande, v. 1, n. 2, p.43-50, 2001.

RUSAK, G.; GUTZEIT, H. O.; LUDWIG-MÜLLER, J. Effects of structurally related flavonoids on hsp gene expression in human pomyeloid leukaemia cells. **Food Technology Biotechnology**, Dresden, v. 40 n. 4, p. 267-273, 2002.

SANTOS, S. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. 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**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/UFSC, 2010. p. 403-434.

SANTOS, R. L.; GUIMARAES, G. P.; NOBLE, M. S. C.; PORTELA, A. S. Analysis of phytotherapy as integrative practice in the National Health System. **Brazilian Journal of Medicinal Plants**, Botucatu, v. 13, n. 4, p. 486-491, 2011.

SCARIOT, A.; SOUSA-SILVA, J. C.; FELFILI, J. N. **Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação**. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2005. 439p.

SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e desenvolvimento de medicamentos. *In*: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Eds.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/ UFSC, 2010; p. 301-332.

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

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, supl., p. 54-56, 2003.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Eds.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. p. 125-132.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in foods and nutraceuticals**. Boca Raton: CRC Press, 2003. 576 p.

SHAHIDI, F.; HO, C. **Phenolic compounds in foods and natural health products**. Washington DC: American Chemical Society, 2005. 320p.

SILVA, A. C.; OLIVEIRA, K. C. B.; GUSEVSKAYA, E. V.; SANTOS, E. N. Rhodium-catalyzed hydroformylation of allylbenzenes and propenylbenzenes: effect of phosphine and diphosphine ligands on chemo- and regioselectivity. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, Belo Horizonte, v. 179, n. 1, p. 133-141, 2002.

SILVA, G. B.; MARTIM, L.; SILVA, C. L.; YOUNG, M. C. M.; LADEIRA, A. M. . Potencial alelopático de espécies arbóreas nativas do Cerrado. **Hoehnea**, São Paulo, v. 33, n. 3, p. 331-338, 2006.

SILVA, C. A. M. **Contribuição ao estudo químico e biológico de *Pouteria gardneri* (Mart. e Miq) Baheni (Sapotaceae)**. 2007. 164f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde). Universidade de Brasília, Brasília.

SILVA, C. A. M.; SIMEONI, L. A.; SILVEIRA, D. Genus *Pouteria*: chemistry and biological activity. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v. 19, n. 2,

p. 501-509, 2009.

SILVA, L. M. G. E. **Estudo químico biomonitorado por ensaio com larvas *Aedes aegypti* das espécies *Ocotea velloziana* (Meisn.) Mez. e *Aiouea trinervis* (Meisn.)**. 2010. 89f. Tese (Doutorado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/UFSC, 2010. p. 323-354.

SOLIS, A.; LUNA, H.; MANJARREZ, N.; PEREZ, H. I. Study on the (R)-oxynitrilase activity of *Pouteria sapota*. **Tetrahedron**, Oxford, v. 60, n. 40, p.10427-10431, 2004.

STOBIECKI, M.; MATYSIAK-KATA, I.; FRANSKI, R.; SKALA, J.; SZOPA, J. Monitoring changes in anthocyanin and steroid alkaloid glycoside content in lines of transgenic potato plants using liquid chromatography/mass spectrometry. **Phytochemistry**, Poznań, v. 62, n. 6, p. 959-969, 2003.

SUFFNESS, M.; ABBOTT, B.; STATZ, D.; WONILOWICZ, E.; SPJUT, R. The utility of P388 leukemia compared to B16 melanoma and colon carcinoma 38 for *in vivo* screening of plants extracts. **Phytotherapy Research**, London, v. 2, n. 1, p.89-97, 1988.

TALAMINI, V.; STADNICK, M. J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: STADNICK, M. J.; TALAMINI, V. (Eds.). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: Editora UFSC, 2004. p.143-157.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant physiology**. 5ed. Sunderland: Sinauer Associates Inc., 2010. 782p.

TRIONO, T.; BROWN, A. H. D.; WEST, J. G.; CRISP, M. D. A phylogeny of *Pouteria* (Sapotaceae) from Malesia and Australasia. **Australian Systematic Botany**, Melbourne, v. 20, n. 2, p. 107-118, 2007.

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

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E. B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância**. (Documento 316). Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 16p.

WEIR, T. L.; PARK, S. W.; VIVANCO, J. M. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Current Opinion in Plant Biology**, Pompano, v. 7, n. 4, p. 472-479, 2004.

WILLIS, R. J. **The history of allelopathy**. 1ed. New York: Springer Verlag, 2010. 330p.

WINK, W. Introduction: Biochemistry, physiology and ecological functions of secondary metabolites. In: WINK, W. (Ed). 2ed. **Biochemistry of plant secondary metabolism**. Annual Plant Reviews, Volume 40. Chichester: John Wiley & Sons Ltd. 2010. p. 1-19.

YANG, S. W.; ABDEL-KADER, M.; MALONE, S.; WERKHOVEN, M. C.; WISSE, J. H.; BURSUKER, I.; NEDDERMANN, K.; FAIRCHILD, C.; RAVENTOS-SUAREZ, C.; MENENDEZ, A. T.; LANE, K.; KINGSTON, D. G. Synthesis and biological evaluation of analogues of cryptolepine, an alkaloid

isolated from the Suriname rainforest. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 62, n. 7, p. 976-983, 1999.

ZAPPI, D. C.; MILLIKEN, W.; HIND, N. D. J.; BIGGS, N.; RANDO, J. G.; MALCOLM, R. M. S. **Plantas do setor nordeste da Serra do Cipó, Minas Gerais**. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew, Reino Unido, 2014. 312p.

6. Artigos

Artigo I

Atividade fungicida de *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk. sobre *Lasiodiplodia theobromae*

Elvia Silvia Rizzi

Resumo

Doenças causadas por fungos na agricultura têm gerado perdas consideráveis. O objetivo deste trabalho foi determinar a classe de metabólitos secundários dos extratos e frações das folhas de *Pouteria ramiflora* e o potencial fungicida sobre *Lasiodiplodia theobromae*. O extrato das folhas de *P. ramiflora*, obtidos via maceração com etanol e parte do extrato etanólico bruto, foi dissolvido em metanol/água e particionado sucessivamente com hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, n-butílico, além da fração extrato bruto e hidrometanólica, a partir de uma solução estoque (200 mg/100 mL) nas concentrações de 800, 1200, 1600, 2000 e 2400 µg/mL e um tratamento controle (meio BDA). Estas soluções (10 ml de cada), individualmente, foram colocadas em placas de petri contendo um disco de 0,5 cm de diâmetro com esporos e micélio de *L. theobromae*. As placas foram incubadas em B.O.D. a temperatura de 25±2 °C e as avaliações, realizadas por meio da medição do diâmetro das colônias até atingir a borda da placa e após três dias foi realizado a medição. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo os tratamentos constituídos do fatorial de sete extratos/frações e seis concentrações. No Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) obtido, procedeu-se Análise de Variância através dos procedimentos PROC GLM do aplicativo SAS e quando significativo, foi realizada a análise de regressão através dos procedimentos PROC REG e PROC NLIN. Todos os extrato/frações diminuíram o IVCM de *L. theobromae*, á medida que se aumentava as concentrações; a melhor redução Índice Velocidade Crescimento Micelial ocorreu na fração n-butanólica.

Palavras-chave: Fitopatógeno; Curriola; Fungo; Fitoquímica.

Abstract

Fungal diseases in agriculture have led to considerable losses. Objective of this study was to appoint the class of secondary metabolites of extracts and fractions of *Pouteria ramiflora* sheets and the potential fungicide on *Lasiodiplodia theobromae*. The extract from leaves of *P. ramiflora* obtained via maceration with ethanol and part of the ethanol extract dissolved in methanol / water and partitioned successively with hexane, dichloromethane, chloroform, ethyl acetate, n-butyl, beyond the fraction of rude extract and hydro methanol from a stock solution (200 mg / 100 ml) at concentrations of 800, 1200, 1600, 2000 and 2400 µg/mL and a control treatment (PDA medium). These solutions (10 mL each), were placed individually in petri dishes containing a disc of 0.5 cm diameter with spores and mycelia of *L. theobromae*. The plates were incubated in B.O.D. in a temperature of 25 ± 2 ° C and the assessment was done in about three days by measuring the diameter of the colonies until it reaches the edge of the board. The experimental design was completely randomized with five replications, and the treatments were constituted of a factorial of seven extracts / fractions and six concentrations. For the Mycelial Index Growth Speed (MIGS) obtained, the analysis of variance through the procedures PROC GLM of SAS application was performed and when it was significant, the regression analysis was performed using procedures PROC REG and PROC NLIN. It that all extract / fractions decreased MIGS of *L. theobromae*, as it increased the concentrations; the best reduction of Index Growth Mycelial speed occurred in n-butanol fraction.

Key-words: Pathogen; Curriola; Fungus; Phytochemistry.

Introdução

O mercado consumidor de alimentos está cada vez mais exigente, pressionando não só pela qualidade dos produtos, mas também, pela certeza da ausência de resíduos de agrotóxicos, levando os fruticultores e horticultores e órgão de extensão rural a pleitearem o registro de produtos químicos derivados de plantas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa), para aplicação em culturas agrícolas de produção em pequena escala;

isto ocorre porque na legislação brasileira há um número insuficiente de ingredientes ativos naturais registrados que possam cobrir todas as culturas, podendo levar o agricultor familiar ao uso indevido de agrotóxicos (ALVARENGA e SOUZA, 1997; MOREIRA, 2013).

Um dos problemas que os agricultores têm enfrentado é a presença de fungos nas culturas, que diminui o tempo de vida útil dos frutos, necessitando, assim, de defensivos agrícolas para combater as doenças que atingem as plantas e também, as doenças pós-colheita dos frutos, aonde, as perdas podem atingir 50% antes de chegar à mesa da população, comprometendo a qualidade desses produtos (TAVARES, 2004); apesar do crescimento da agricultura brasileira, patologias nessa área são pouco estudadas e avaliadas (SENHOR *et al.*, 2009).

Em culturas como a do mamão, por exemplo, os fungos são um fator limitante, DANTAS *et al.* (2003) relatam a ocorrência de doenças fúngicas em 82,5% dos frutos avaliados. A produção de morango também sofre problemas relacionados ao seu manejo, especialmente pela presença significativa de doenças fúngicas (LORENZETTI *et al.*, 2011).

Estudos concluem que fungos, como *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., tem sido um problema limitante para a produção de frutos em regiões tropicais (CYSNE *et al.*, 2006). Esse fungo representa, possivelmente, a maior ameaça à produção de frutos, pelo seu poder de destruição e sintomas por ele determinados, aliado à sua dispersão assintomática pelas sementes; é oportunista ou secundário que, precisa de alguma abertura natural ou ferimento para adentrar no interior dos tecidos da planta; posteriormente esse patógeno avança rapidamente, em flores e frutos novos e a doença causa seca, morte e queda, além de também acometer frutos desenvolvidos e mudas de enxerto (CARDOSO *et al.*, 1998; JUNQUEIRA e JUNQUEIRA, 2014), ocorrendo em cerca de 500 espécies de plantas (PUNITHALINGAM, 1980).

Dentre as culturas prejudicadas por *L. theobromae*, tanto na fase de produção quanto na pós-colheita, está o cultivo de manga (LINS *et al.*, 2012; 2013), onde este entra pelo pedúnculo ou ferimentos, formando lesões escuras na base, com bordas definidas; em seguida, os tecidos danificados podem

rachar, exibindo a polpa da fruta. Também causa danos expressivos nos frutos de goiabeira, em diferentes estágios de desenvolvimento (SUSSEL, 2010); em cajueiro a espécie é responsável por causar resinose (CARDOSO *et al.*, 2010), além de prejudicar a produção de cocos (*Cocos nucifera* L.) (CORREIA e COSTA, 2005), cacau (*Theobroma cacao* L.) (BORGES *et al.*, 2014) e acerola (*Malpighia puniceifolia* L.), onde causa a morte de um enorme número de plantas (LIMA *et al.*, 2014).

O uso de fungicidas sintéticos vem sendo a primeira opção dos agricultores brasileiros, pela facilidade e previsibilidade do manejo empregado. Porém, esta prática tem promovido vários problemas ambientais, tais como a contaminação de alimentos, do solo, da água, dos animais, o desequilíbrio do sistema biológico, além da redução da biodiversidade (SILVA *et al.*, 2005).

Diante deste cenário, justifica-se a busca de produtos alternativos no controle de patógenos que acometem culturas diversas, que sejam eficazes e de baixo custo ambiental e financeiro.

Estudos de extratos vegetais, bálsamos e óleos para o controle da população de fungos e outros micro-organismos, especialmente aqueles que provocam danos à agricultura, tem tido um aumento considerável nos últimos anos (BASTOS, 1997; DAVID *et al.*, 2006), sendo importantes para a descoberta de novas substâncias que sejam mais eficazes para o controle de determinadas espécies que se tornaram pragas ou que ameacem a produção de determinadas culturas (WEIR *et al.*, 2004).

Progressos na fitoquímica têm colaborado para o conhecimento da composição química das plantas, evidenciando a bioatividade de muitas substâncias naturais, que podem interferir na germinação de sementes, no desenvolvimento de plantas e no crescimento de fungos (CUNICO *et al.*, 2002; FERREIRA e ROSA, 2009).

Dentre as espécies que apresentam bioatividade encontra-se *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk., conhecida popularmente como curriola, brasa-viva ou fruta-de-veado (LORENZI, 2002). Na medicina popular, é conhecida principalmente por sua ação anti-inflamatória e vermífuga (CONDESSA, 2011),

além de possuir ação alelopática, bactericida e fungicida (COSTA *et al.*, 2003; WILLIS, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Levando-se em consideração seu potencial, esta pesquisa teve como objetivo determinar a classe de metabólitos secundários dos extratos e frações das folhas de *Pouteria ramiflora* e seu potencial fungicida sobre *Lasiodiplodia theobromae* em diferentes concentrações.

Material e Métodos

Material vegetal

As folhas de *Pouteria ramiflora*, de 13 matrizes localizadas em áreas de Cerrado, foram coletadas manualmente com auxílio de tesoura de poda e podão em 26/05/2013, Região do Taboco (20°29'54.47''S 55°48'48.49''O e 19°26'7.60''S 55°00'2.78''O), no município de Corguinho, Mato Grosso do Sul; foram então acondicionadas em sacos de polietileno, em forma de câmara úmida e transportada para o Laboratório de Pesquisa em Sistemas Ambientais e Biodiversidade, Universidade Anhanguera-Uniderp, onde exsiccatas foram herborizadas e enviadas ao herbário do Laboratório de Morfologia Vegetal, onde após identificação, um exemplar foi catalogado e incorporado ao acervo com o número 7829.

O material coletado, após a exclusão de folhas velhas e/ou danificados, foi seco a temperatura ambiente (± 27 °C), fragmentado com auxílio de tesoura de poda e triturado em moinho elétrico (MARCONI®, MA048), sendo posteriormente armazenado em frasco de vidro âmbar hermeticamente fechado, rotulado e guardado em geladeira, até a preparação dos extratos.

Obtenção do extrato vegetal e partição

Para obtenção do extrato etanólico bruto (Ext_{EtOH}), as folhas moídas foram pesadas (800 g) e extraídas com etanol. A extração foi feita em duas etapas, primeiro em aparelho de ultrassom (UNIDQUE®, 1450) por 60 minutos, seguido por 24 horas de extração por maceração, repetindo-se este procedimento, a temperatura ambiente, até exaustão (30 dias). As soluções resultantes após filtração foram concentradas fornecendo o extrato bruto em

etanol das folhas (Ext_{EtOH}).

Parte do extrato Ext_{EtOH} foi dissolvido em etanol/água e particionado sucessivamente, com os solventes orgânicos de polaridade crescente: hexano (fração hexânica = F_{Hex}); diclorometano (Fração Diclorometano = F_{Di}); clorofórmio (Fração Clorofórmica = F_{CHCl_3}); acetato de etila (Fração acetato de etila = F_{Acoet}), n-butanol (fração butanólica = F_{BuOH}) e o resíduo da partição caracterizado como fração hidroetanólica ($F_{H_2O/MeOH}$). A partição foi empregada visando uma semipurificação das substâncias através de suas polaridades (CECHINEL FILHO *et al.*, 2001).

Após remoção dos solventes, foram obtidas as frações que, juntamente com o extrato etanólico bruto, foram utilizados para os ensaios com o fungo *L. theobromae*. As soluções foram submetidas à análise fitoquímica via úmida, por meio de uma série de reações, tais como: compostos fenólicos (reações de precipitação: cloreto férrico a 2%; acetato de chumbo a 10% e acetato de cobre a 4%), taninos (reações de precipitação: sais de ferro e precipitação de proteínas), flavonóides (reação de cianidina e ácido sulfúrico), antocianinas, antocianidinas e flavonóides (presença de coloração em pH 2-3, 7, 8-9 e 11), flavonas, flavonóis, flavonóides e Xantonas (pH 11), chalconas e auronas (pH 2-3 e pH 11), cumarinas (observação sob a luz ultravioleta), antraquinonas (reação ácido/base), triterpenos e esteróides (reação de Liebermann-Burchard), glicosídeos cardiotônicos (Keller-Killiani e teste de Pesez), glicosídeos cianogênico (reação de ácido sulfúrico e papel picrossódico), saponinas (presença de espuma e reação de Liebermann-Burchard) e açúcares redutores (reação de Benedict) (MATOS, 2009). A exceção a este procedimento foi a análise do índice de espuma, utilizando-se de 1 g do extrato seco, para estimar o índice de saponinas (índice afrosimétrico), com as análises em triplicatas (COSTA, 2002).

As análises foram executadas em triplicata e os resultados foram comparados e contrastados, observando a alteração de cor e/ou precipitação frente ao controle (apenas o extrato) (COSTA, 2002). A intensidade da cor e/ou precipitação é um indicativo da elevada concentração de uma das classes de metabólitos secundários presentes em espécies botânicas. Como padrão, para

amostras com intensa cor e/ou precipitação, foi denominada fortemente positiva (+++), seguido de moderadamente positiva (++) , fracamente (+), parcialmente positivo (\pm = com apenas turvação e/ou alteração parcial de cor) e a ausência de cor e/ou precipitação, como negativo (-) (FONTOURA *et al.*, prelo).

Ensaio biológico *in vitro*

O fungo (*L. theobromae*), utilizado no ensaio antifúngico, foi preservado em tubos contendo meio de cultura BDA (Batata-dextrose-ágar), em geladeira. Sete dias antes de sua utilização, foi repicado para placas de Petri contendo o meio BDA e colocado em B.O.D., a ± 25 °C.

Para os bioensaios, foi preparada uma solução estoque do extrato etanólico bruto (Ext_{ETOH}) e de cada uma das frações (F_{Hex}; F_{Di}; F_{CHCl3}; F_{Acet}; F_{BuOH} e F_{H2O/MeOH}), utilizando 0,2 g das amostras e completado o volume com os respectivos solventes até o volume de 100 mL, em balão volumétrico. Das soluções estoques do extrato Ext_{ETOH} e das frações, foi feita uma nova diluição para obter a concentração de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$, utilizando como solvente uma solução hidroetanólica a 20%, com 5 μL de DMSO (Dimetilsulfoxido).

Estas soluções (500 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foram utilizadas nos bioensaios e uma alíquota foi incorporada em meio batata-dextrose-ágar (BDA) fundente (± 45 °C), previamente auto clavado (120 °C e 1 atm por 15 minutos), para obter as concentrações de 800, 1200, 1600, 2000 e 2400 $\mu\text{g mL}^{-1}$, além do meio BDA, puro, como testemunha. Posteriormente, 10 mL do meio, com as diferentes concentrações, foi vertido, individualmente, em placas de Petri estéreis e, em seguida, depositado um disco de 0,5 cm de diâmetro com esporos e micélio, separadamente, de *L. theobromae* no centro de cada placa.

Após vedação com filme de PVC, as placas foram distribuídas aleatoriamente e permaneceram incubadas em B.O.D. a 25 ± 2 °C; com o auxílio de paquímetro digital, o crescimento micelial foi avaliado diariamente por meio de medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas perpendiculares), até atingirem a borda da placa (aproximadamente três dias). A partir dos dados de crescimento micelial, foi calculado o índice de velocidade

de crescimento micelial.

$$IVCM = \frac{\sum(d - da)}{N}$$

sendo:

IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial;

D = diâmetro médio atual da colônia;

Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior;

N = número de dias após a inoculação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições, sendo os tratamentos constituindo do fatorial de sete extratos/frações e seis concentrações. No IVCM obtido procedeu-se Análise de Variância através dos procedimentos PROC GLM do aplicativo SAS e quando significativo análise de regressão através dos procedimentos PROC REG e PROC NLIN (SAS, 1993).

Resultados e Discussão

Análise fitoquímica

Análise fitoquímica do extrato etanólico e das frações demonstrou que a semi-purificação com solventes de polaridade diferentes teve a capacidade de separar os componentes presentes nas folhas de *P. ramiflora* (Tabela 1).

A avaliação do extrato indicou que Ext_{EtOH} (Tabela 1) contém oito classes de metabólitos secundários, com predominância dos compostos fenólicos, flavonóides, triterpenos, esteróides e açúcares redutores. A fração que se destaca, em relação à quantidade de classes, é a hidrometanólica, com seis (compostos fenólicos, taninos, flavonóides, cumarinas, saponinas e açúcares redutores). As demais apresentaram um número de classes que variou entre 3 e 4.

O extrato Ext_{EtOH} apresentou maior diversidade de metabólitos secundários em relação as frações, além de maior intensidade dos compostos fenólicos, flavonóides e antraquinonas, exceto para as cumarinas, que foram predominantes na fração F_{CHCl3} e as saponinas, não detectadas neste extrato.

Nas frações F_{Hex} e F_{Acoet} (Tabela 1), foram detectadas as mesmas classes de metabólitos secundários, diferenciando-se apenas na intensidade para a fração F_{Hex} (maior intensidade). Para as frações F_{Di} e F_{CHCl_3} ocorreram os mesmos fito-constituintes, diferenciando-se apenas na intensidade para as cumarinas. Para fração F_{BuOH} foram encontrados os açúcares redutores, os flavonóides e as antraquinonas. Os resultados negativos obtidos para as frações não implicam necessariamente na ausência dos fito-constituintes, sendo que a quantidade dos mesmos, quando em escala inferior a semi-micro muitas vezes, não é detectada na análise qualitativa.

Tabela 1. Análises fitoquímicas do Extrato Etanólico Bruto (Ext_{EtOH}) e das frações (Hexânica = F_{Hex} ; Diclorometano = F_{Di} ; Clorofórmica = F_{CHCl_3} ; Acetato de etila = F_{Acoet} ; Butanólica = F_{BuOH} ; Hidrometanólica = $F_{H_2O/MeOH}$) de folhas *P. ramiflora*. Campo Grande – MS – 2015.

| Classe de Metabólitos Secundários | Extrato e Frações | | | | | | |
|-----------------------------------|-------------------|-----------|----------|--------------|-------------|------------|-----------------|
| | Ext_{EtOH} | F_{Hex} | F_{Di} | F_{CHCl_3} | F_{Acoet} | F_{BuOH} | $F_{H_2O/MeOH}$ |
| Compostos Fenólicos | +++ | + | ± | ++ | ++ | - | + |
| Taninos | ++ | - | - | - | - | - | ++ |
| Flavonóides | +++ | ++ | - | - | ++ | ++ | + |
| Cumarinas | + | - | + | +++ | - | - | + |
| Antraquinonas | +++ | - | - | - | - | +++ | - |
| Triterpenos | +++ | +++ | - | ++ | ++ | - | - |
| Esteróides | +++ | +++ | ++ | + | ++ | - | - |
| Saponinas | - | - | - | - | - | - | + |
| Açúcares redutores | +++ | - | - | - | - | + | +++ |

(+) menor intensidade, (++) média intensidade, (+++) maior intensidade, (±) parcial, (-) resultado negativo.

Segundo ZUANAZZI e MONTANHA (2003), a extração com solventes de polaridades diferentes, como o hexano, tem a capacidade de retirar as substâncias com menor polaridade (óleos, hidrocarbonetos, furanocumarinas, gorduras, esteróis e pigmentos), facilitando a retirada posterior dos demais constituintes, como os flavonóides. Os haletos orgânicos (diclorometano seguido de clorofórmio) extraem os alcalóides, antraquinonas livres, heterosídeos cardiotônicos, óleos essenciais e ceras. Em sequência, com maior polaridade, é utilizado o acetato de etila, solvente que permite recuperar as agliconas livres pouco polares, como cumarinas, sapogeninas, flavonas, flavonóis, flavanonas, di-hidroflavonóis, isoflavona e outras flavonas de alto grau de metilação. O n-butanol extrai as agliconas poli-hidroxiadas, flavonas e flavonóis mais polares, auronas e chalconas. Na fração aquosa ou hidrometanólica, ficam os componentes com maior polaridade, com os heterosídeos (poliglicosídeos), mucilagens, goma e pectina, sais de alcalóides, flavanodióis, catequinas, procianidinas e os açúcares. Com base nestas informações, pode-se observar na tabela 1 que os solventes utilizados na partição separaram os constituintes químicos do extrato Ext_{EtOH}.

Os principais constituintes citados para as espécies do gênero são os triterpenos (simples e de cadeia longa ou esteres de acetato) e flavonóides. Os hidrocarbonetos de cadeia longa, álcoois, ácidos e ésteres também foram citados principalmente em espécies que ocorrem em regiões secas, como por exemplo, em áreas de savana, no Brasil (LOPEZ, 2005; SILVA *et al.*, 2009).

As antraquinonas não foram registradas para outras espécies do gênero e apenas recentemente, para as cascas de *P. ramiflora*, também coletada na região de Cerrado, em Mato Grosso do Sul (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Os mesmos autores evidenciaram nos extratos analisados, além das antraquinonas livres, a presença de compostos fenólicos, taninos, cumarinas, açúcares redutores e saponinas nas cascas internas e externas do extrato aquoso e etanólico e também esteróides e triterpenos, apenas no extrato etanólico.

Os compostos fenólicos também foram descritos para *Pouteria caimito* (Ruiz & Pav.) Radlk., *P. gardneriana* Radlk e *P. campechiana* Kunth (CANUTO

et al., 2010; ROCHA et al., 2011; MA et al., 2004) e taninos relatados, para os frutos de *P. gardneriana* (ROCHA et al., 2011).

Em trabalho recente, CARRIÇO et al. (2014) ao investigarem o extrato aquoso das folhas de *Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn, encontraram flavonóides, cumarinas, glicosídeos cianogênicos e açúcares redutores como as classes de metabólitos secundários mais abundantes. Estas informações demonstram a diversidade de substâncias presentes em espécies do gênero *Pouteria*, encontradas nas folhas de *P. ramiflora*.

Atividade antifúngica do extrato etanólico e frações

As frações F_{CHCl_3} (Figura 1), F_{Acoet} (Figura 2) e $F_{\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}}$ (Figura 3), apresentaram um padrão similar, proporcionando queda do IVCM a partir da concentração de $800 \mu\text{g mL}^{-1}$ (F_{Acoet} e $F_{\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}}$) e $1200 \mu\text{g mL}^{-1}$ (F_{CHCl_3}), onde os valores foram: F_{CHCl_3} com IVCM $23,95 \text{ mm dia}^{-1}$, F_{Acoet} com IVCM de $20,17 \text{ mm dia}^{-1}$ e $F_{\text{H}_2\text{O}/\text{MeOH}}$ com IVCM de $31,95 \text{ mm dia}^{-1}$. Para as maiores concentrações, ocorre uma tendência de estabilização, não apresentando resultados significativos nestes valores.

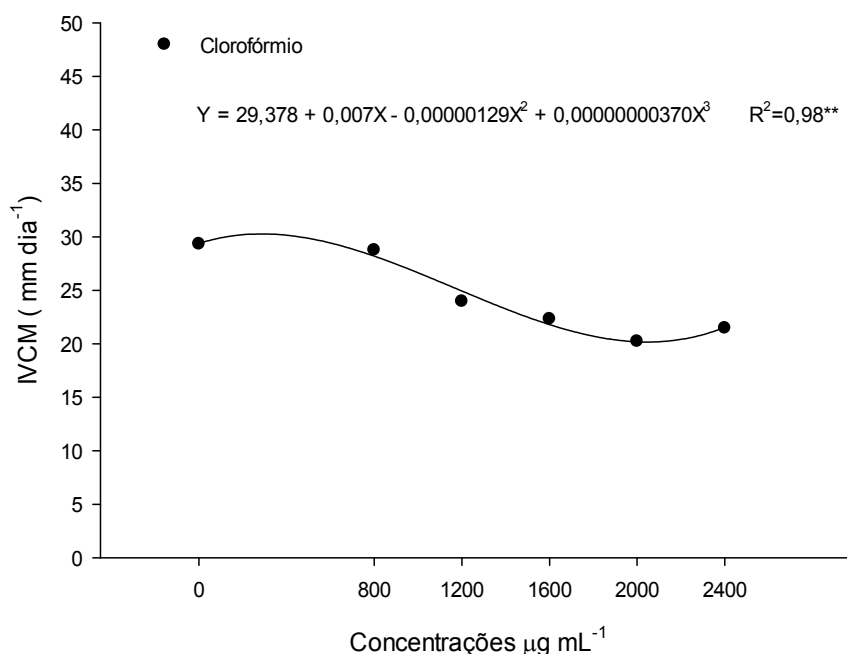


Figura 1. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Lasiodiplodia theobromae* em relação à F_{CHCl_3} , em diferentes concentrações, para folhas de *Pouteria ramiflora*.

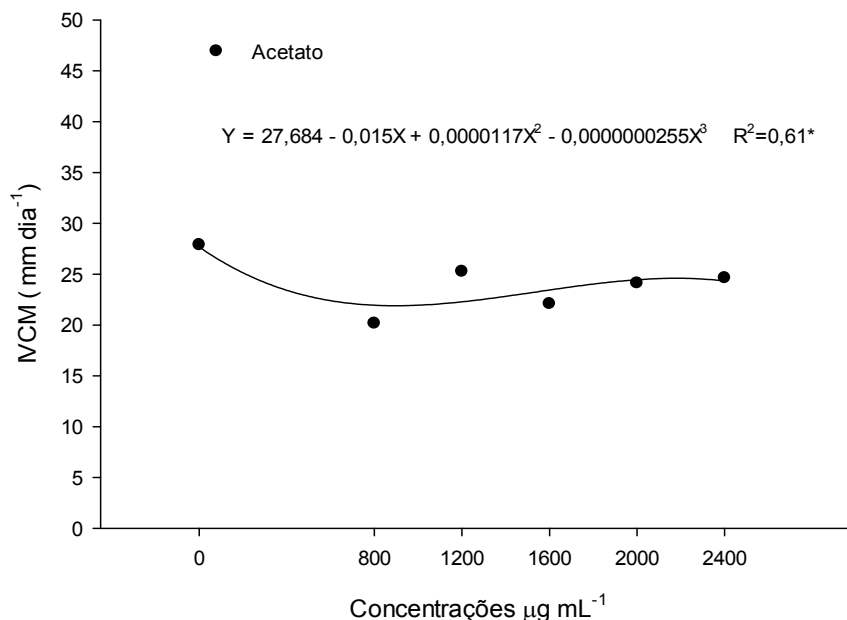


Figura 2. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Lasiodiplodia theobromae* em relação à F_{Acoet} , em diferentes concentrações, para folhas de *Pouteria ramiflora*.

A similaridade evidenciada na ação fungicida para as frações com polaridade intermediária (frações F_{CHCl_3} e F_{Acoet}), apesar da variabilidade observada na análise química destas frações, está diretamente relacionada ao antagonismo da composição química, como observado na tabela 1, p.42.

O uso de extratos vegetais e óleos com ação antagônica e que tem a capacidade de inibirem o crescimento de fitopatógenos *in vitro* e *in vivo* é descrito por vários pesquisadores. Estudos com extrato e óleo essencial de *Piper aduncum* L. apresentaram atividade antagônica sobre o desenvolvimento de *Ralstonia solanacearum* (VÉRAS e YUYAMA, 2001). Ainda VÉRAS *et al.* (2002), manipulando óleos de *Aniba duckei* Kosterm. e *Couepia edulis* Prance e extrato etanólico de *Dieffenbachia picta* (Lodd.) Schott. sobre o crescimento de *R. solanacearum*, observaram que somente o extrato de *D. picta* apresentou atividade.

SILVA *et al.* (2007) utilizaram as frações clorofórmica e acetato de etila de *Cissus verticillata* L. (Vitaceae) sobre *Cladosporium sphaerospermum* e constataram que essas frações demonstraram atividade. O constituinte majoritário encontrado na fração clorofórmica foram os terpenóides e o composto ativo da fração acetato de etila, os compostos fenólicos.

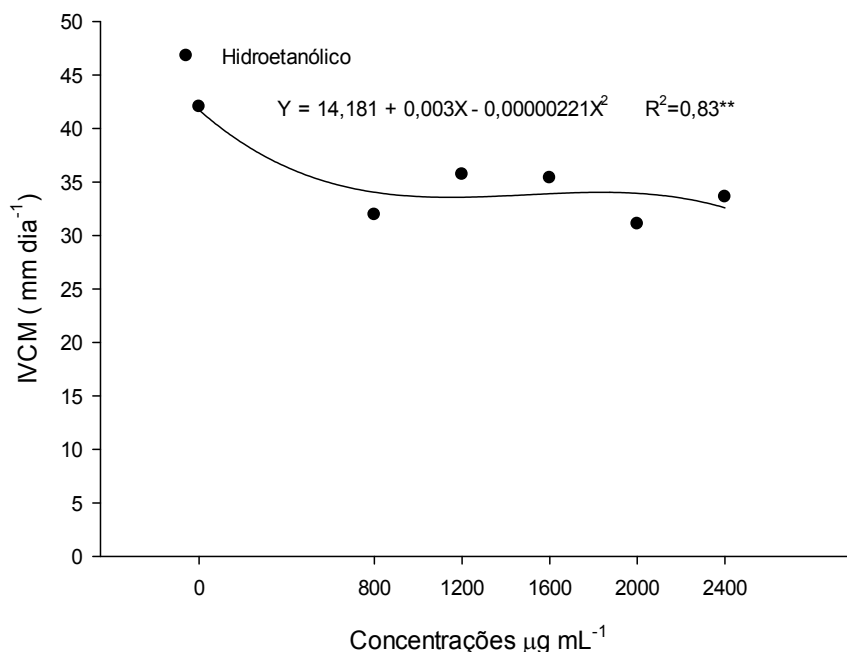


Figura 3. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Lasiodiplodia theobromae* em relação à F_{H₂O/MeOH} em diferentes concentrações, para folhas de *Pouteria ramiflora*.

Ao contrário das frações F_{CHCl₃} e F_{AcOet}, a fração F_{H₂O/MeOH}, a mais polar, possui uma maior diversidade de fitoconstituintes porém em menor intensidade, exceto para os açúcares redutores (maior intensidade = +++) e taninos (++) , além da presença de saponinas.

Os resultados apresentados por SILVA *et al.* (2006) indicaram que o extrato hidroetanólico das folhas frescas de *Ocimum basilicum* L. a 20%, provocou inibição no crescimento micelial nas concentrações de 100, 91 e 84% do *L. theobromae*, respectivamente, sendo os extratos das folhas secas (5, 10,

15 e 20%) completamente inativos nas mesmas condições, resultado parcialmente similar ao encontrado por este trabalho.

A inibição do crescimento micelial do *L. theobromae* também pode ser observada com extrato aquoso das folhas frescas de cinco espécies de plantas (*Glyricidia sepium* (Jacq) Linn, *Tectona grandis* Linn. *Ocimum gratissimum* Linn., *Anacardium occidentales* Linn. e *Carica papaya* Linn.), nas concentrações de 2,5, 5, 7,5 e 10% (v / v), nos tempos de 3, 5 e 7 dias. Todos os extratos inibiram o crescimento micelial do fungo mesmo na concentração mais baixa de 2,5%, com o tempo de exposição influenciando na inibição do crescimento micelial. Os extratos de *O. gratissimum* e *A. occidentales* foram mais eficazes em relação aos demais extratos (AGBENIYI e AYODELE, 2013).

Para as frações F_{BuOH} (Figura 7, p.51), F_{Hex} (Figura 6, p.50), Ext_{EtOH} (Figura 4, p.48), F_{Di} (Figura 5, p.49), o padrão também manteve semelhança entre eles, com queda do IVCM a partir da concentração de $800 \mu\text{g mL}^{-1}$. Posteriormente, ocorre uma diminuição gradativa, apresentando menor IVCM na concentração de $2400 \mu\text{g mL}^{-1}$, com valores de $15,65 \text{ mm dia}^{-1}$ - Ext_{EtOH} , $10,15 \text{ mm dia}^{-1}$ - F_{Hex} , $13,98 \text{ mm dia}^{-1}$ - F_{Di} e $1,67 \text{ mm dia}^{-1}$ - F_{BuOH} .

A fração F_{BuOH} e o Ext_{EtOH} possuem antraquinonas em maior intensidade, o que as diferem das demais soluções; também apresentaram flavonóides, assim, como as frações F_{Hex} , F_{Acoet} e $F_{H2O/MeOH}$ das folhas de *P. ramiflora*. Levando-se em consideração que F_{BuOH} apresentou melhor ação fungitóxica, diminuindo a velocidade de crescimento micelial de *L. theobromae* em relação aos demais tratamentos, esta situação pode estar relacionada com aos flavonóides e antraquinonas. O mesmo não ocorreu com o extrato Ext_{EtOH} , provavelmente devido a diversidade dos fitoconstituintes.

As antraquinonas obtidas de fontes naturais são conhecidas por apresentar atividade antibacteriana e antifúngica; especificamente às quinonas (reína, aloe-emodina, fisciona e crisofanol) isoladas a partir de rizomas de *Rheum emodi* Wall. exibiram atividade antifúngica contra *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton mentagrophytes* e *Aspergillus fumigatus* (AGARWAL et al., 2000).

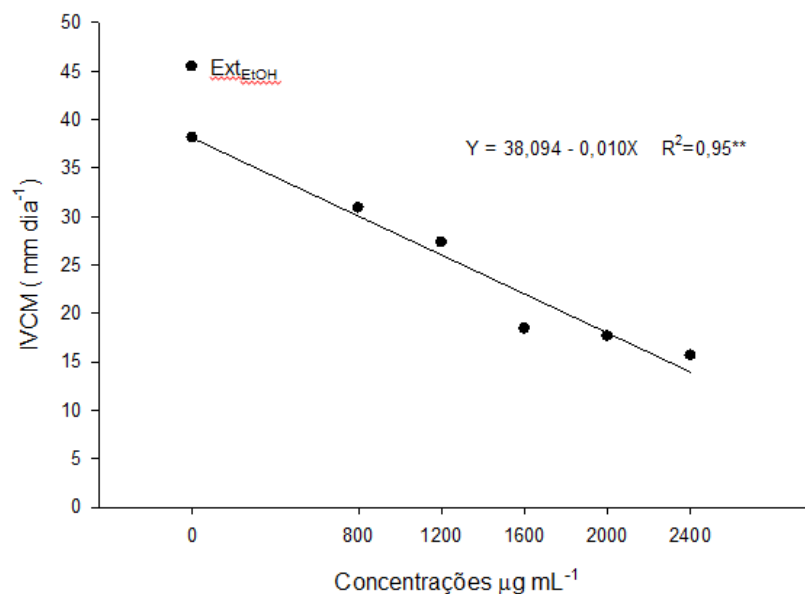


Figura 4. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Lasiodiplodia theobromae* em relação ao extrato Ext_{EtOH}, para folhas *Pouteria ramiflora*.

BARROS *et al.* (2011) avaliaram o extrato etanólico das folhas e raízes de *Coccoloba mollis* Casar. e isolaram duas antraquinonas (emodina e fisciona) do extrato etanólico das raízes após fracionamento químico, frente ao fitopatogênio *Lasiodiplodia theobromae*; o extrato etanólico das raízes e a emodina foram mais ativos, com 33,2% e 31,6% de inibição, respectivamente.

A atividade fungicida, *in vitro*, foi também evidenciada por NOGUEIRA (2012) para o extrato etanólico das folhas de *P. ramiflora* contra *Candida albicans*, com a concentração inibitória mínima de 500 e 125 µg/mL. Este extrato também inibiu o crescimento das cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella setubal*.

ASSIS (2013), trabalhando com extratos etanólicos de *P. ramiflora* (cascas do caule e da raiz), evidenciou atividade fungitóxica sobre *Candida parapsilosis*, com valores de concentração inibitória mínima menor que de 3,9 µg mL⁻¹.

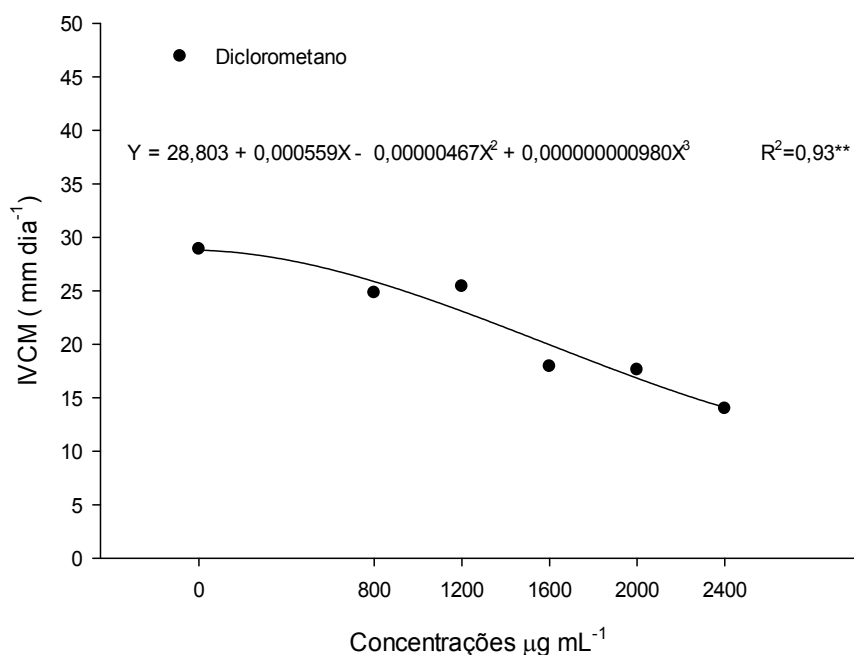


Figura 5. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Lasiodiplodia theobromae* em relação à fração F_{Di} , em diferentes concentrações, para folhas *Pouteria ramiflora*.

Já o extrato diclorometano das folhas de *Echinodorus macrophyllus* (Kunth) Micheli apresentou atividade sobre *Candida parapsilosis* (ASSIS, 2013), resultados semelhantes foram encontrados neste estudo.

SCALCO *et al.* (2014), isolando compostos fungitóxicos dos extratos em diclorometano de *Hypericum cordatum*, uma espécie do Cerrado, obtiveram um composto identificado como aloaromadendrano-4 α -10 β -diol responsável pela atividade sobre *Cladosporium cladosporioides* e *Cladosporium sphaerospermum*.

A atividade antifúngica desta fração está associada aos terpenos, mesmo não sendo muito conhecido seu mecanismo de ação; a esta classe de metabólito secundário são atribuídos várias atividades biológicas, em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos, que podem impedir a atividade de agentes patogênicos (STANGARLIN *et al.*, 1999).

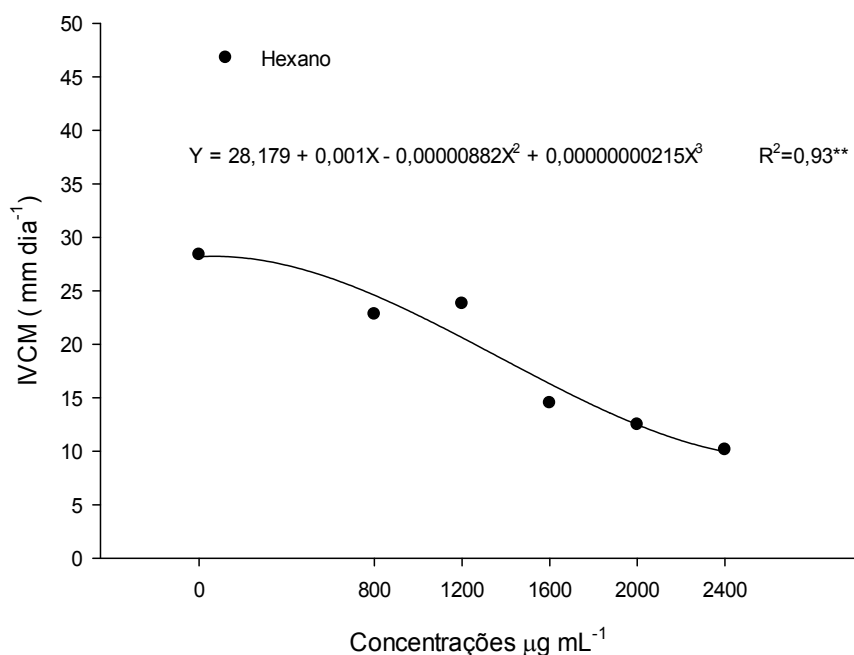


Figura 6. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Lasiodiplodia theobromae* em relação à fração F_{Hex}, em diferentes concentrações, para folhas *Pouteria ramiflora*.

LÓPEZ (2005), trabalhando com extratos hexânico e etanólico de *Pouteria torta* (Mart.) Radlk, relatou atividade microbiana contra *S. aureus*, resultado similar aos encontrados por este trabalho.

Estudos com frações hexânica e n-butanólica de *Cissus verticillata* L. (Vitaceae) não apresentaram atividade antifúngica contra *Cladosporium sphaerospermum* (SILVA *et al.*, 2007), diferente ao encontrado neste trabalho, onde as mesmas frações hexânica e n-butanólica de *P. ramiflora* mostraram ação fungitóxica para *L. theobrome*, diminuindo seu IVCM.

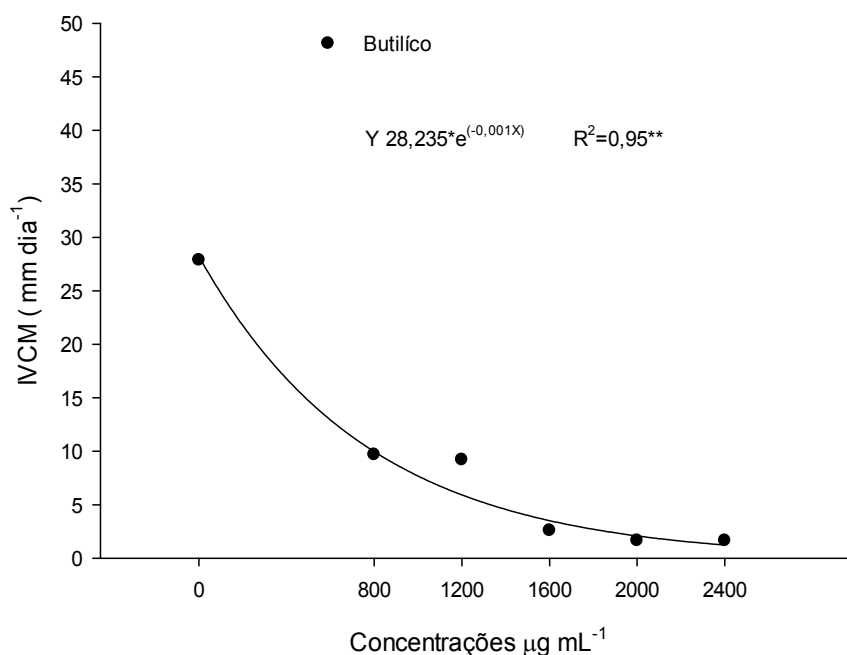


Figura 7. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Lasiodiplodia theobromae* em relação à fração F_{BuOH} em diferentes concentrações, para folhas *Pouteria ramiflora*.

A diferença do espectro de atividade fungicida do extrato etanólico e frações e a maior atividade da fração butanólica pode ser devido três razões: em primeiro lugar, a polaridade do extrato etanólico e frações que seleciona fitoconstituintes com afinidades diferentes nos receptores do fungo *L. theobromae*; em segundo lugar, o composto ativo pode estar presente numa quantidade insuficiente nas frações que tiveram o IVCM inferior ao extrato Ext_{EtOH} e as frações F_{Hex} , F_{Di} e F_{BuOH} ; sendo assim, o nível da dose empregada é insuficiente; e, em terceiro lugar, se o princípio ativo está presente no extrato Ext_{EtOH} e nas frações; porém outros constituintes estão exercendo efeitos antagônicos do bioativo.

Conclusão

Assim, o menor índice de velocidade de crescimento micelial foi observado na concentração de $2400 \mu\text{g mL}^{-1}$, na fração butanólica.

Referências Bibliográficas

AGARWAL, S. K.; SINGH, S. S.; VERMA, S.; KUMAR, S. Antifungal activity of anthraquinone derivatives from *Rheum emodi*. **Journal of Ethnopharmacology**, India, v. 72, n. 1-2, p. 43-46, 2000.

AGBENIYI, S. O.; AYODELE, M. S. Efficacy of plant leaf extracts on the mycelial growth of kolanuts storage pathogens, *Lasiodiplodia theobromae* and *Fusarium pallidoroseum*. **African Journal of Agricultural Research**, Nairobi, v. 8, n. 22, p. 2730-2732, 2013.

ALVARENGA, A. A.; SOUZA, C. R. Tratos culturais para Pessegueiros/Ameixeiras/Nectarinas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 18, n. 189, p. 51-5, 1997.

ASSIS, P. A. **Atividade antifúngica de extratos depositados no banco de extratos de plantas do bioma cerrado e de substâncias isoladas de *Matayba guianensis***. 2013. 168f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) Faculdade de Ciências da Saúde - Universidade de Brasília, Brasília.

BARROS, I. B.; DANIEL, J. F. S.; PINTO, J. P.; REZENDE, M. I.; BRAZ FILHO, R.; FERREIRA, D. T. Phytochemical and antifungal activity of anthraquinones and root and leaf extracts of *Coccoloba mollis* on phytopathogens. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 54, n. 3, p. 535-54, 2011.

BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 441-443, 1997.

BORGES, J. G.; COSTA, L. A.; DRUZIAN, J. I. Produção e caracterização de biomassa extracelular obtida por fermentação submersa usando *Lasiodiplodia theobromae* isolado do cacau. **Polímeros**, São Carlos, v. 24, n. 1, p. 52-57, 2014.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e correlação com a sua atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CARDOSO, J. E.; FREIRE, F. C. O.; SÁ, F. T. Disseminação e controle da resinose em troncos de cajueiro decepados para substituição de copa. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, n. 1, p. 48-50, 1998.

CARDOSO, J. E.; CYSNE, A. Q.; COSTA, J. V. T. A.; VIANA, F. M. P. Screening method for selection of cashew clone resistant to gummosis. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 36, n. 4, p. 329-333, 2010.

CARRIÇO, C.; PINTO, Z. T.; DUTOK, C. M. S.; CAETANO, R. L.; PESSANHA, R. R.; CHIL-NUÑEZ, I.; MENDONÇA, P. M.; ESCALONA-ARRANZ, J. C.; REYES-TUR, B.; QUEIROZ, M. M. C. Biological activity of *Pouteria sapota* leaf extract on post-embryonic development of blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Calliphoridae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 24, n. 3, p. 304-308, 2014.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estudo químico de plantas medicinais orientado para análise biológica. Obtenção, determinação e modificação estrutural de compostos bioativo. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (Eds.). **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001. p. 47-75.

CONDESSA, M. B. **Avaliação da atividade antioxidante e alelopática de plantas medicinais**. 2011. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) Universidade de Brasília, Brasília.

CORREIA, M. S.; COSTA, J. L. S. Dispersão anemófila do fungo *Lasiodiplodia theobromae* em plantações de coqueiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n.2 p.150-154, 2005.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 5ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002. 1117p.

COSTA, A. F.; SILVA, G. F.; ESCUDERO, M. C. Estudo comparativo entre produtos químicos preservantes e licores pirolenhosos na inibição de fungos emboloradores. **Brasil Florestal**, Brasília, v. 21, n. 75, p. 23-30, 2003.

CUNICO, M. M.; CRIRIO, G. M.; MIGUEL, O. G.; MIGUEL, M. D.; MONTRUCCHIO, D. P.; AUER, C. G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Contribuição ao estudo da atividade antifúngica de *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss., Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 12, n. 2, p. 69-73, 2002.

CYSNE, A. Q.; CARDOSO, J. E.; COSTA, J.; SOUZA, T. R. M. Avaliação de meios de cultura para crescimento e esporulação de *Lasiodiplodia theobromae*. In: Encontro de Iniciação Científica da Embrapa Agroindústria Tropical. 2006, 4, 31 de maio a 2 de junho, Fortaleza. Documentos 104 **Resumos...** Fortaleza: Embrapa Agricultura Tropical, 2006. 86p.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M. A.; MICHEREFF, S. J.; NASCIMENTO, L. C.; GURGEL, L. M. S.; PESSOA, W. R. L. S. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, p.528-533, 2003.

DAVID, E. F. S.; BOARO, C. S. F.; MARQUES, M. O. M. Rendimento e composição do óleo essencial de *Mentha piperita* L., cultivada em solução nutritiva com diferentes níveis de fósforo. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Paulínia, v.8, n.4, p.183-188, 2006.

FERREIRA, A. G.; ROSA, S. G. T. Germinação de sementes de sete espécies medicinais nativas do sul do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Paulínia, v. 11, n. 3, p. 230-235, 2009.

FONTOURA, F. M.; MATIAS, R.; OLIVEIRA, A. K. M.; LUDWIG, J.; BONO, J. A. M.; MARTINS, P. F. R. B.; CORSINO, J.; GUEDES, N. M. R. Seasonal effects and antifungal activity from bark chemical constituents of *Sterculia apetala* (Malvaceae) at Pantanal of Miranda, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Acta Amazônica**, Manaus, no prelo, 2015.

JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P. Principais doenças de anonáceas no Brasil: descrição e controle. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 36, edição especial, p. 55-64, 2014.

LIMA, E. N.; LIMA, J. S.; LIMA, I. B.; ARAÚJO, M. E. B.; BERTINI, C. H. C. M. Reação de clones de aceroleira a *Lasiodiplodia theobromae*. **Enciclopédia Biosfera-Centro Científico Conhecer**, Goiânia, v. 10, n. 19, p. 1616-1622, 2014.

LINS, S. R. O.; OLIVEIRA, S. M. A.; XAVIER, A. S.; RANDAU, K. P. Prospecção fitoquímica de extratos de plantas e controle da podridão peduncular em manga. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v. 7, n. 1, p. 97-103, 2012.

LINS, S. R. O.; MELO, A. P.; OLIVEIRA, S. M. A. Podridão peduncular em manga: patogenicidade, agressividade e caracterização de isolados pela análise isoenzimática. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 39, n. 4, p. 263-270, 2013.

LÓPEZ, K. S. E. **Estudo químico e atividade biológica de *Pouteria torta* (Mart.) Radlk. (Sapotaceae)**. 2005. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, Brasília.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. 5ed. Nova Odessa: Editora Plantarum, v. 1, 2002. 392p.

LORENZETTI, E. R.; MONTEIRO, F. P.; SOUZA, P. E.; SOUZA, R. J.; SCALICE, H. K.; DIOGO JR, R.; PIRES, M. S. O. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 13, n. especial, p. 619-627, 2011.

MA, J.; YANG, H.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Analysis of polyphenolic antioxidants from the fruits of three *Pouteria* species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Davis, v. 52, n. 19, p. 5873-5872, 2004.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 3ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150p.

MOREIRA, M. R. S. Um olhar sobre a agricultura familiar, a saúde humana e o ambiente. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 65, n.3, p. 53-57, 2013.

NOGUEIRA, L. G. **Avaliação do potencial antimicrobiano de *Pouteria* spp. e de triterpenos quinonametídeos com enfoque no *Helicobacter pylori***. 2012. 107f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, Araraquara – SP.

OLIVEIRA, A. K. M.; PEREIRA, K. C. L.; MULLER, J. A. I.; MATIAS, R. Análise fitoquímica e potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 32, n. 1, p. 41-47, 2014.

PUNITHALINGAM, E. **Plant diseases attributed to *Botryodiplodia theobromae* Pat.** Vaduz: J. Cramer, 1980. v. 71. 121p.

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P.; AGOSTINI-COSTA, T. D. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p.1215-1221, 2011.

SAS. System Analysis Statistics. **User's Guide**, Version 6.4 ed., Cary. NC: SAS Institute Inc. 1993, 840p.

SCALCO, N.; LADEIRA, A. M.; LAGO, J. H. G.; YONG, M. C. M.; CARVALHO, L. R. Avaliação de atividade fungitóxica e isolamento de aloaromadendrano-4 α -10 β -diol em *Hypericum cordatum*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.3, supl. 1, p.744-749. 2014.

SENHOR, R. F.; SOUZA, P. A.; ANDRADE NETO, R. C.; MARACAJÁ, P. B.; NASCIMENTO, F. J. Manejo de doenças pós-colheita. **Revista Verde**, Mossoró, v. 4, n. 1, p. 1-13, 2009.

SILVA, C. A. M.; SIMEONI, L. A.; SILVEIRA, D. Genus *Pouteria*: chemistry and biological activity. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 501-509, 2009.

SILVA, M. G. V.; MATOS, F. J. A.; MACHADO, M. I. L.; PESSOA, M. N. G.; FEITOSA, V. S.; MARQUES, M. O. M. Net, 2006. Fortaleza. **Estudo da composição química dos óleos essenciais obtidos através de várias técnicas e avaliação da atividade antifúngica de *Ocimum basilicum***. Disponível em: <<http://www.sbq.org.br/ranteriores/23/resumos/1446-1/index.html>>. Acesso em: 10 jan. 2015.

SILVA, J. M.; NOVATO-SILVA, E.; FARIA, H. P.; PINHERO, T. M. M. Agrotóxico e trabalho: Uma combinação perigosa para saúde do trabalhador rural. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 10, n. 4, p. 891-903, 2005.

SILVA, L.; ONIKI, G. H.; AGRIPINO, D. G.; MORENO, P. R. H; YOUNG, M. C. M.; MAYWORM, M. A. S.; LADEIRA, A. M. Bicyclogermacreno, resveratrol e atividade antifúngica em extratos de folhas de *Cissus verticillata* (L.) Nicolson & Jarvis (Vitaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 361-367, 2007.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotechnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, v. 11, p. 16-21, 1999.

SUSSEL, A. A. B. **Manejo de doenças fúngicas em goiaba e maracujá**. Planaltina, Embrapa Cerrados, 2010. 43p.

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

VÉRAS, S. M.; YUYAMA, K. Atividade antagônica *in vitro* do óleo essencial e extrato de pimenta-longa (*Piper aduncum*), no crescimento de *Ralstonia solanacearum* Raças 1 e 2. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, suplemento, p. 274, 2001.

VÉRAS, S. M.; KAORU, Y.; ROCHA, S. N.; PINHEIRO, C. C. Extratos e óleos voláteis vegetais com potencial para controle de *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, suplemento, p. 5-72, 2002.

WEIR, T. L.; PARK, S. W.; VIVANCO, J. M. Biochemical and physiological mechanisms mediated by allelochemicals. **Current Opinion in Plant Biology**, Pompano , v. 7, n. 4, p. 472-479, 2004.

WILLIS, R. J. **The history of allelopathy**. 1ed. New York: Springer Verlag, 2010. 330p.

ZUANAZZI, J. A.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Eds.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis/Porto Alegre: Editora UFSC/UFRGS, 2003. p. 577-614.

Artigo II

Atividade fungicida de *Pouteria ramiflora* sobre *Fusarium solani* f. sp *phaseoli*

Elvia Silvia Rizzi

Resumo

Entre os fungos que acometem a cultura do feijão está *Fusarium solani*, causando grandes perdas. Levando-se em consideração sua importância, o objetivo deste trabalho foi determinar a classe de metabólitos secundários e o potencial fungicida das folhas de *Pouteria ramiflora*, em extrato e frações de diferentes concentrações, sobre *F. solani*. O extrato das folhas de *P. ramiflora*, obtido via maceração com etanol e extrato posteriormente dissolvido em metanol/água e particionado sucessivamente com hexano, diclorometano, clorofórmio, acetato de etila, n-butílico nas concentrações de 800, 1200, 1600, 2000 e 2400 µg/mL e tratamento controle (meio BDA), foram utilizados para avaliar o crescimento de *F. solani* em condições de laboratório. Em placas de petri, 10 mL das soluções, nas diferentes concentrações, foram vertidas, individualmente, sendo em seguida depositado um disco de 0,5 cm de diâmetro com esporos e micélio de *F. solani*. As placas foram incubadas em B.O.D. a temperatura de 25±2 °C e as avaliações, realizadas por meio da medição do diâmetro das colônias até atingir a borda da placa (três dias). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo os tratamentos constituindo do fatorial de sete extratos/frações e seis concentrações. Com o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) obtido procedeu-se a Análise de Variância através dos procedimentos PROC GLM do aplicativo SAS e quando significativo, foi realizada a análise de regressão através dos procedimentos PROC REG e PROC NLIN. Concluiu-se que todos os extrato/frações diminuíram o IVCM de *F. solani*, à medida que se aumentava as concentrações; a melhor redução ocorreu na fração n-butanólica.

Palavras-chave: Sapotaceae; Feijão; Metabólitos secundários.

Abstract

Among the fungus that attack the bean crop there is *Fusarium solani*, causing huge losses. Taking into account its importance, the objective of this work was to determine the class of secondary metabolites and the potential fungicide of the leaves of *Pouteria ramiflora*, in extract and fractions of different concentrations, on *F. solani*. The *P. ramiflora* leaves extract, that was obtained via maceration using ethanol extract and subsequently dissolved in methanol / water and partitioned successively with hexane, dichloromethane, chloroform, ethyl acetate, n-butyl, the fraction rude extract and hydromethano in concentrations of 800, 1200, 1600, 2000 and 2400 ug / ml and under control treatment (PDA medium), were used to evaluate the growth of *F. solani* under laboratory conditions. In petri dishes, 10 ml of solutions at different concentrations were poured individually and then deposited a disc of 0.5 cm diameter with spores and mycelia of *F. solani*. The plates were incubated in B.O.D. in a temperature of 25 ± 2 ° C and the assessment was done in about three days by measuring the diameter of the colonies until it reaches the edge of the board. The experimental design was completely randomized with five replications, and the treatments constituted of a factorial of seven extracts / fractions and six concentrations. For the Mycelial Index Growth Speed (MIGS) obtained, the analysis of variance through the procedures PROC GLM of SAS application was performed and when it was significant, the regression analysis was performed using procedures PROC REG and PROC NLIN. It was concluded that all extract / fractions decreased MIGS of *F. solani*, as it increased the concentrations; the best reduction occurred in the n-butanol fraction.

Keywords: Sapotaceae; Beans; Secondary metabolites.

Introdução

As doenças causadas por fungos de solo constituem um complexo etiológico, sendo responsáveis pelas maiores perdas de produtividade nas áreas irrigadas do Sudeste e Centro-Oeste do Brasil (CARDOSO, 1992); entre esses fungos está *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. f. sp. *phaseoli* (Burkh.) T. Aoki

e O'Donnell (sinonímia de *Haematonectria haematococca* (Berk. e Broome) Samuels & Rossman) (CATALOGUE OF LIFE, 2015), que causa podridão radicular e lesões em caules, com sintomas secundário de amarelecimento, redução de tamanho, murcha e seca no feijoeiro e em outras culturas de interesse econômico como a soja, ocorrendo praticamente, em todas as regiões produtoras de feijão no Brasil (BLUM *et al.*, 2006; GARCIA *et al.*, 2014).

As podridões radiculares podem matar a planta antes da formação das infrutescências, provocando redução de até 100% no rendimento de grãos; a doença pode estar distribuída na lavoura de modo isolado, em pequenos grupos, reboleiras ou, faixas, em razão da distribuição do inoculo (CASA *et al.* 2011).

Segundo REIS *et al.* (2004), as podridões radiculares, em geral, são consideradas doenças de controle difícil, devido a rotação de culturas de curta duração, difícil controle; considerando-se os danos que causam essas doenças, têm recebido pouca atenção por parte de pesquisadores.

A redução e, até mesmo, a eliminação do uso de agrotóxicos e fertilizantes químicos, esbarram na grande diversidade de doenças que atacam a cultura do feijoeiro, fazendo-se necessária a busca por alternativas viáveis e eficientes para o controle de doenças (SBALCHEIRO, 2006).

Buscando diminuir estes prejuízos causados pelo uso de agrotóxicos, vêm sendo pesquisadas alternativas para o controle de fitopatógenos; uma delas é a exploração da atividade biológica de metabólitos secundários presentes em extratos vegetais brutos e óleos essenciais de plantas medicinais da flora nativa do Cerrado (DI PIERO *et al.*, 2010).

O uso e pesquisa de plantas medicinais nativas do Cerrado têm como aliados a grande diversidade de plantas, sendo 44% destas, são endêmicas, associadas ao baixo custo (KLINK e MACHADO, 2005; SANTOS *et al.*, 2011).

Um dos gêneros presentes no bioma é *Pouteria* (Sapotaceae), que possui cerca de 430 espécies no Brasil (ALMEIDA *et al.*, 1998); com hábito arbustivo-arbóreo, *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk., uma das espécies encontradas, se destaca, distribuída em áreas de Cerrado, com comprovadas atividades biológicas (DALPONTE e LIMA, 1999).

Um dos principais aspectos a serem observados para a escolha de uma família e espécie a ser estudada consiste nas informações oriundas da medicina popular que descrevem atividade analgésica, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória, antipirética, antitumoral, antiviral, entre outras, em espécies da família (SILVA *et al.*, 2009). Estudos fitoquímicos preliminares da casca relataram a presença de alcalóides, fenóis, polifenóis, saponinas, taninos, triterpenos, antraquinonas e esteróides (KUETE, *et al.*, 2006).

OLIVEIRA *et al.* (2014) detectaram antraquinonas livres, compostos fenólicos, taninos, cumarinas, açúcares redutores e saponinas nas cascas internas e externas do caule nos extratos aquoso e etanólico, além de esteróides e triterpenos apenas no extrato etanólico de *P. ramiflora*. RIZZI (2015), em outro estudo, com folhas, evidenciaram compostos fenólicos, flavonóides, taninos, cumarinas, antraquinonas, triterpenos, esteróides e açúcares redutores; na fração hidrometanólica, compostos fenólicos, taninos, flavonóides, cumarinas e açúcares redutores no extrato etanólico e saponinas, no extrato seco e na fração hidrometanólico. No processo de partição do extrato etanólico, os autores separaram os constituintes químicos e estas frações e o extrato etanólico diminuíram o índice de velocidade de crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae*. NOGUEIRA (2012) demonstrou o efeito do extrato etanólico das folhas de *P. ramiflora*, ativo para *Candida albicans* em diferentes concentrações, indicando o potencial da espécie.

Propriedades bioativas presentes em extratos vegetais e óleos essenciais, produzidos pelas plantas, como uma consequência do metabolismo secundário, mostraram-se eficientes no controle do crescimento de uma ampla variedade de microrganismos, incluindo fungos filamentosos, leveduras e bactérias, o que evidencia o potencial das plantas no combate a esses organismos patogênicos (DUARTE, 2006).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi determinar a classe de metabólitos secundários dos extratos e frações das folhas de *Pouteria ramiflora* (Mart.) Radlk e seu potencial fungicida sobre *Fusarium solani* f. sp *phaseoli* em diferentes concentrações.

Material e Métodos

Material vegetal

As folhas de *Pouteria ramiflora* foram obtidas de 13 matrizes localizadas em áreas de Cerrado, região do Taboco (20°29'54.47''S 55°48'48.49''O e 19°26'7.60''S 55°00'2.78''O), município de Corguinho, Mato Grosso do Sul. As folhas foram coletadas manualmente com auxílio de tesoura de poda e podão, acondicionadas em sacos de polietileno, em forma de câmara úmida e transportada para o Laboratório de Pesquisa em Sistemas Ambientais e Biodiversidade, Universidade Anhanguera-Uniderp. Após a identificação e descrição, um exemplar foi catalogado, registrado no número 7829 e incorporado ao acervo.

Do material botânico coletado, foram excluídas as folhas velhas ou danificados e o restante submetido à secagem a temperatura ambiente (± 27 °C), triturado em moinho elétrico (MARCONI®, MA048) e posteriormente, armazenado em frasco de vidro âmbar hermeticamente fechado, rotulado e guardado em geladeira, até a preparação dos extratos.

Obtenção do extrato vegetal e partição

O extrato etanólico bruto (Ext_{EtOH}) de *P. ramiflora* foi obtido a partir de 800 g de folhas secas e moidas, submetidas a extração com etanol, primeiro em aparelho de ultra-som (UNIDQUE®, 1450) por 60 minutos, seguido por 24 horas de extração por maceração, a temperatura ambiente; este procedimento foi repetido por 30 dias e as soluções extrativas; após filtração, foram eliminadas e o extrato Ext_{EtOH} obtido.

Para obter as frações, optou-se pela partição que foi empregada visando uma semipurificação das substâncias presentes no extrato Ext_{EtOH} das folhas de *P. ramiflora*, através de suas polaridades (CECHINEL FILHO e YUNES, 2001). Parte do extrato Ext_{EtOH} foi suspenso em metanol/água e submetido à partição líquido-líquido, com os solventes orgânicos de diferentes polaridades: hexano (fração hexânica = F_{Hex}); diclorometano (Fração Diclorometano = F_{Di}); clorofórmio (Fração Cloroformica = F_{CHCl₃}); acetato de etila (Fração acetato de etila = F_{AcOet}), n-butanol (fração butanólica = F_{BuOH}) e o resíduo da partição

caracterizado como fração hidrometanólico ($F_{H_2O/MeOH}$).

As frações foram obtidas a partir da evaporação dos solventes na capela, e estas, juntamente com o extrato etanólico, foram utilizadas para a obtenção dos espectros UV-visível (10 mg mL^{-1}), determinados na faixa de comprimento de onda de 200 a 800 nm para os bioensaios de atividade antifúngica frente a *Fusarium solani*.

Ensaio biológico *in vitro*

O fungo (*F. solani*), utilizado no ensaio antifúngico, foi preservado em tubos contendo meio de cultura BDA (Batata-dextrose-ágar), em geladeira. Sete dias antes de sua utilização, foi repicado para placas de Petri contendo o meio BDA e colocado em B.O.D., a $\pm 25 \text{ }^\circ\text{C}$.

Para os bioensaios, foi preparada uma solução estoque do extrato etanólico bruto (Ext_{EtOH}) e de cada uma das frações (F_{Hex} ; F_{Di} ; F_{CHCl_3} ; F_{AcOet} ; F_{BuOH} e $F_{\text{H}_2\text{O/MeOH}}$), utilizando 0,2 g das amostras e completado o volume com os respectivos solventes até o volume de 100 mL, em balão volumétrico. Das soluções estoques do extrato Ext_{EtOH} e das frações, foi feita uma nova diluição para obter a concentração de $500 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, utilizando como solvente uma solução hidroetanólica a 20%, com $5 \text{ } \mu\text{L}$ de DMSO (Dimetilsulfoxido).

Estas soluções ($500 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$), foram utilizadas nos bioensaios e uma alíquota de cada foi incorporada em meio batata-dextrose-ágar (BDA) aquecido ($\pm 45 \text{ }^\circ\text{C}$), nas concentrações de 800, 1200, 1600, 2000 e $2400 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, além do meio BDA, puro, como testemunha. Posteriormente, 10 mL do meio batata-dextrose-ágar (BDA), com as diferentes concentrações, foram vertidos, individualmente, em placas de Petri estéreis e, em seguida, depositado um disco de 0,5 cm de diâmetro com esporos e micélio, separadamente, de *F. solani* no centro de cada placa.

Após vedação com filme de PVC, as placas foram distribuídas aleatoriamente e permaneceram incubadas em B.O.D. a $25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$. Com o auxílio de paquímetro digital, o crescimento micelial foi avaliado diariamente por meio de medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas perpendiculares), até atingirem a borda da placa (aproximadamente três dias).

A partir dos dados de crescimento micelial, foi calculado o índice de velocidade de crescimento micelial.

$$IVCM = \frac{\sum(d - da)}{N}$$

sendo:

IVCM = índice de velocidade de crescimento micelial;

D = diâmetro médio atual da colônia;

Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior;

N = número de dias após a inoculação.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 repetições, sendo os tratamentos constituindo do fatorial de sete extratos/frações e seis concentrações. No IVCM obtido procedeu-se a Análise de Variância através dos procedimentos PROC GLM do aplicativo SAS e quando significativo, foi feita a análise de regressão através dos procedimentos PROC REG e PROC NLIN (SAS, 1993).

Resultados e Discussão

A avaliação do extrato etanólico bruto (Ext_{EtOH}) e das frações (Hexânica = F_{Hex} ; Diclorometano = F_{Di} ; Clorofórmica = F_{CHCl_3} ; Acetato de etila = F_{Acet} ; Butanólica = F_{BuOH} ; Hidrometanólica = $F_{H_2O/MeOH}$) das folhas *P. ramiflora*, no espectro de absorção na região UV-visível, usando soluções de 10 mg mL⁻¹ hidroalcolica, demonstraram que a partição separou os grupos químicos (Figura 1), fator observado pela intensidade de absorção de seus constituintes.

De maneira geral, os resultados obtidos pela varredura no espectro de absorção na região UV-visível do extrato e frações demonstraram que ambas as amostras apresentaram absorção máxima semelhante entre 330 e 390 nm, correspondente aos compostos fenólicos e flavonóides, exceto para a fração F_{Di} . Estes dados confirmam a predominância destas duas classes de metabólitos secundários, assim como os espectros demonstram o mesmo perfil químico relatado por RIZZI (2015) para as folhas de *P. ramiflora*. Os flavonóides apresentam no ultravioleta visível 2 máximos de absorção, um entre 240-285 nm e outro entre 300-400 nm (ZUANAZZI e MONTANHA, 2003).

Na figura 1 observa uma banda larga apenas na região 300-400 nm, confirmando a presença de flavonóides.

A absorção entre 430 a 490 nm refere-se às antraquinonas (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000), o que é observado para Ext_{EtOH} e nas frações F_{Hex}, F_{Acet} e F_{BuOH}. Na análise qualitativa, este grupo químico, foi detectado por RIZZI (2015) apenas em Ext_{EtOH} e na fração F_{BuOH} das folhas *P. ramiflora*.

Segundo SILVERSTEIN e WEBSTER (2000), no espectro de UV-visível pode-se monitorar a absorção da radiação pelas moléculas dos compostos químicos e, pela comparação da amostra, relacionar com absorção em comprimentos de ondas pré-estabelecidos, isto é, tabelados; nesta análise trabalha-se em escala micro, sendo possível detectar grupos químicos em menor concentração.

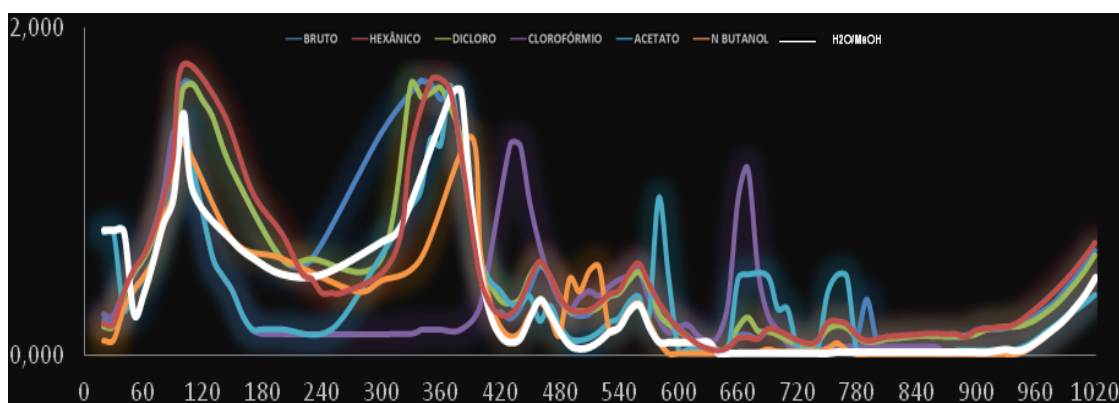


Figura 1. Espectros de absorção na região UV-visível do extrato Ext_{EtOH} e das frações F_{Hex}, F_{Di}, F_{CHCl3}, F_{Acet}, F_{BuOH} e F_{H2O/MeOH} das folhas de *P. ramiflora*.

Os principais constituintes citados para as espécies do gênero são os triterpenos (simples e de cadeia longa ou ésteres de acetato) e flavonóides. Os hidrocarbonetos de cadeia longa, álcoois, ácidos e ésteres também foram citados, principalmente em espécies que ocorrem em regiões secas, como por exemplo, em áreas de savana, no Brasil (LOPEZ, 2005; SILVA *et al.*, 2009).

As antraquinonas não foram registradas para outras espécies do gênero e apenas recentemente, para as cascas de *P. ramiflora*, também coletada na região de Cerrado em Mato Grosso do Sul (OLIVEIRA *et al.*, 2014). Estes autores também evidenciaram, nos extratos analisados, além das

antraquinonas livres, a presença de compostos fenólicos, taninos, cumarinas, açúcares redutores e saponinas nas cascas internas e externas do caule no extrato aquoso e etanólico e também esteróides e triterpenos, apenas no extrato etanólico.

Os compostos fenólicos também foram descritos para *Pouteria caimito* (Ruiz & Pav.) Radlk., *P. gardneriana* Radlk e *P. campechiana* Kunth (CANUTO *et al.*, 2010; ROCHA *et al.*, 2011; MA *et al.*, 2004) e taninos, para frutos de *P. gardneriana* (ROCHA *et al.*, 2011).

CARRIÇO *et al.* (2014), ao investigarem o extrato aquoso das folhas de *Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore & Stearn, encontraram flavonóides, cumarinas, glicosídeos cianogênicos e açúcares redutores, como as classes de metabólitos secundários mais abundantes. Estas informações demonstram a diversidade de substâncias presentes em espécies do gênero *Pouteria*, encontradas nas folhas de *P. ramiflora*.

Atividade antifúngica do extrato etanólico e frações

De acordo com o gráfico $F_{H_2O/MeOH}$ (Figura 1, p.69), ocorreu diminuição do IVMC logo na concentração de $800 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($16,80 \text{ mm dia}^{-1}$), mantendo valores significativamente estáveis até $1600 \mu\text{g mL}^{-1}$ ($18,08 \text{ mm dia}^{-1}$); nas maiores concentrações ocorreu queda, sendo o menor IVCM na concentração de $2400 \mu\text{g mL}^{-1}$ com $11,80 \text{ mm dia}^{-1}$.

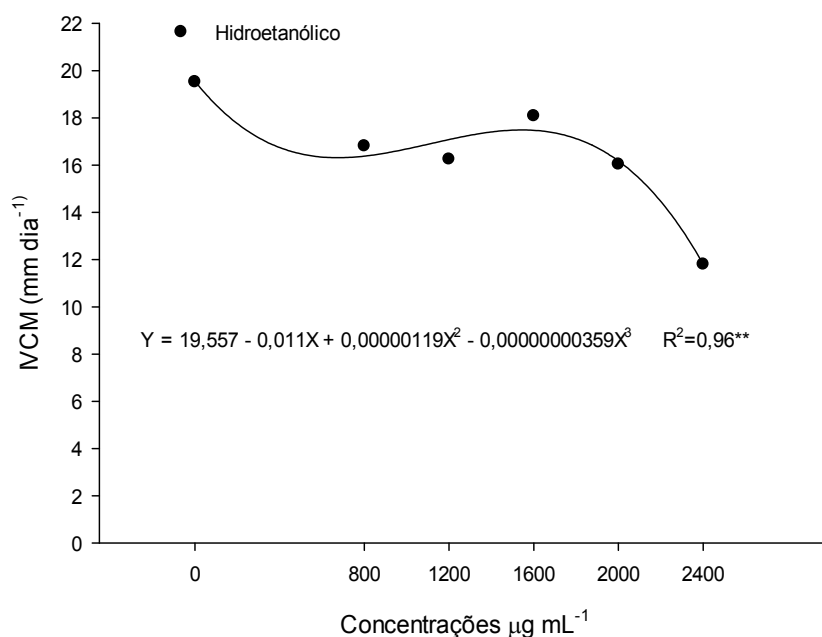


Figura 1. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Fusarium solani* relação à $F_{H_2O/MeOH}$, em diferentes concentrações, para folhas de *Pouteria ramiflora*.

Resultados similares foram encontrados por NASCIMENTO *et al.* (2008), com extrato hidroetanólico do cerne do caule de *Qualea* sp. que apresentou atividade fungitóxica sobre *Fusarium solani* f. sp. *glycines* e *Sclerotinia sclerotiorum*.

FARIA *et al.* (2009), ao trabalharem com extrato hidroetanólico de *Momordica charantia* L. aplicando antes do plantio, de forma preventiva, também encontraram redução na severidade da doença (74%) causada pelo fungo *Sclerotium rolfsii*.

De acordo com os gráficos avaliados, ocorreu uma tendência de queda gradual no IVCM a partir da concentração de 800 µg mL⁻¹ nas frações F_{Di} (Figura 2, p.70), F_{CHCl_3} (Figura 3, p.71), F_{Hex} (Figura 5, p.72), Ext_{EtOH} (Figura 6, p.73) e F_{BuOH} (Figura 7, p.74), onde os menores valores foram observados na maior concentração (2400 µg mL⁻¹), sendo estes, 8,75 mm dia⁻¹ – F_{Di} , 8,49 mm dia⁻¹ – F_{CHCl_3} , 2,75 mm dia⁻¹ – F_{Hex} , 8,59 mm dia⁻¹ para Ext_{EtOH} e 1,00 mm dia⁻¹ – F_{BuOH} , com melhor resultado obtido para F_{BuOH} (Figura 7, p.74).

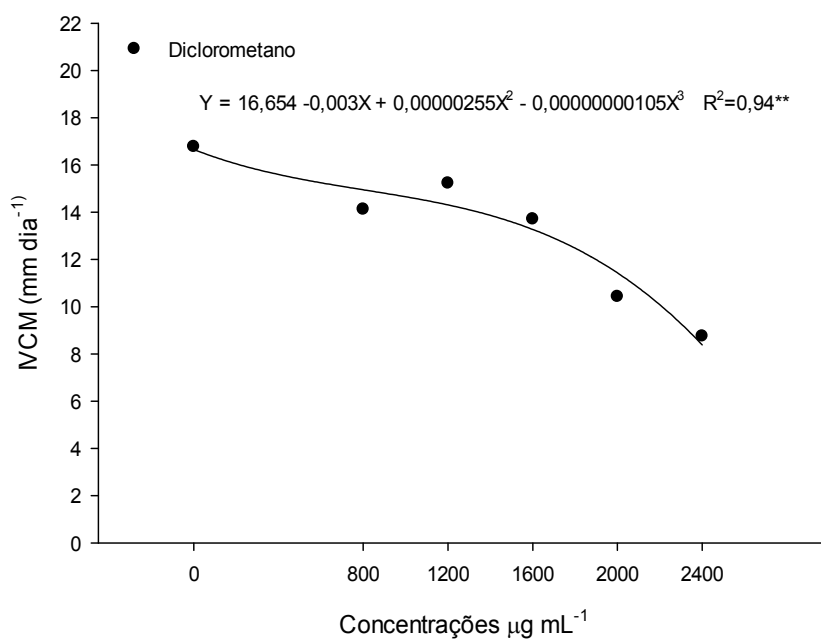


Figura 2. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Fusarium solani* em relação à fração F_{Di} , em diferentes concentrações para folhas *Pouteria ramiflora*.

ROSA *et al.* (2011) também demonstrou que o extrato de *Solanum cernuum* Vell., extraído com diclorometano, mostrou-se ativo no controle de *Colletotrichum musae*, *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Fusarium solani* f. sp. *Piperis* e *Penicillium* sp. Estes dados corroboram os resultados encontrados por este estudo, onde a fração de diclorometano mostrou-se ativa contra *Fusarium solani*.

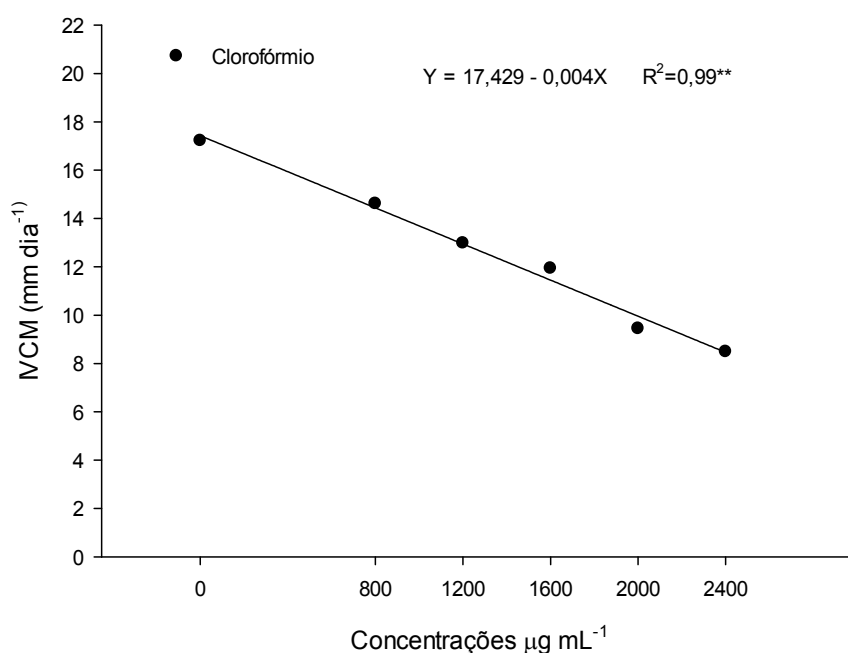


Figura 3. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Fusarium solani* em relação à F_{CHCl_3} , em diferentes concentrações, para folhas de *Pouteria ramiflora*.

SOUSA *et al.* (2013) também demonstraram a eficácia da utilização de clorofórmio como solvente, em extratos provenientes do caule de *Zea mays* L. e de *Genipa americana* L., obtidos com o solvente clorofórmio, que apresentaram capacidade de inibitória no crescimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopesci* raça.

Ao analisar a atividade antimicrobiana de *Morus alba* L., PEREIRA (2013) notou que as frações com melhores respostas foram de acetato de etila e clorofórmica, na concentração de 256 µg mL⁻¹ sobre *Candida albicans*, resultados parcialmente semelhantes aos encontrados por este trabalho.

Para a fração F_{Acoet} (Figura 4, p.72), houve queda a partir da concentração de 800 µg mL⁻¹ com valor 11,26 mm dia⁻¹, notando uma tendência de estabilização nas maiores concentrações.

O mesmo comportamento foi verificado para as frações F_{Hex} (Figura 5, p.72), extrato Ext_{EtOH} (Figura 6, p.73) e fração F_{BuOH} (Figura 7, p.74).

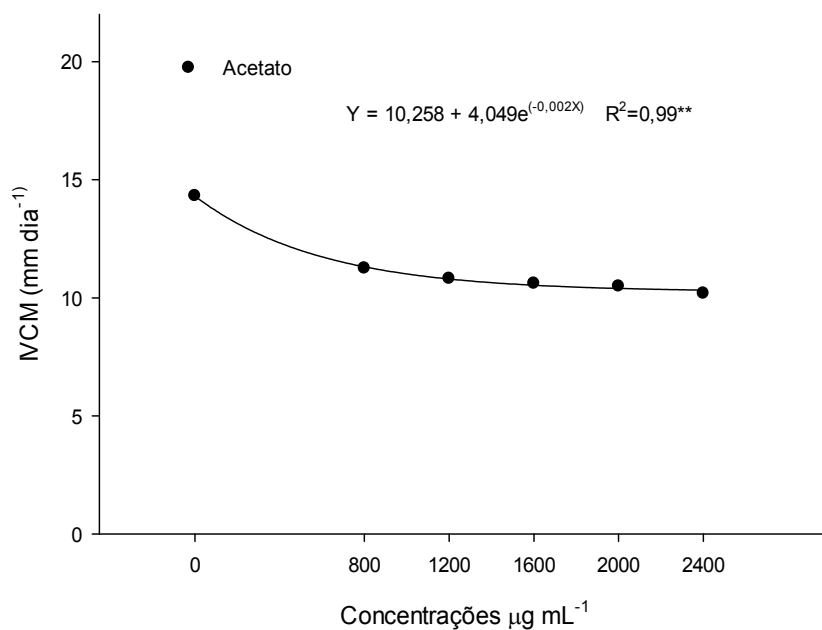


Figura 4. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Fusarium solani* em relação à F_{AcOet} , em diferentes concentrações, para folhas de *Pouteria ramiflora*.

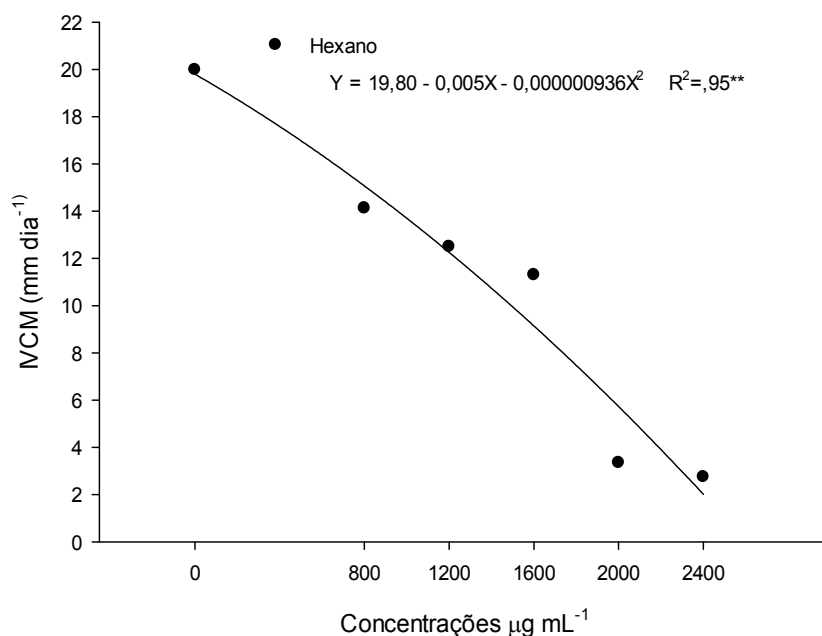


Figura 5. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Fusarium solani* em relação à fração F_{Hex} , em diferentes concentrações, para folhas de *Pouteria ramiflora*.

O extrato hexânico das folhas de *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. não inibiu o crescimento micelial de *Saccharomices cerviciae* e *Aspergillus brasiliensis* (RAMOS *et al.*, 2012), diferindo dos resultados encontrados neste estudo.

Para a fração hexânica e de acetato de etila, PEREIRA (2013) presenciou apenas atividade moderada contra *C. albicans* e *C. tropicalis* e forte atividade antifúngica contra *C. glabrata* e *C. krusei*, resultados similares aos obtidos por este trabalho.

Extratos hexânicos revelaram maior atividade antifúngica em trabalho realizado por DOMINGUES *et al.* (2009) do que extratos etanólicos, obtidos de *Ruta graveolens* L., *Allamanda catartica* L. e *Impatiens walleriana* Hook. f. para o fungo *Sclerotium rofsii*; já *walleriana* foi mais eficaz para *Alternaria solani*. Segundo o mesmo autor, as substâncias provenientes das plantas foram melhor extraídas pelo hexano (solvente apolar) do que pelo etanol (solvente polar).

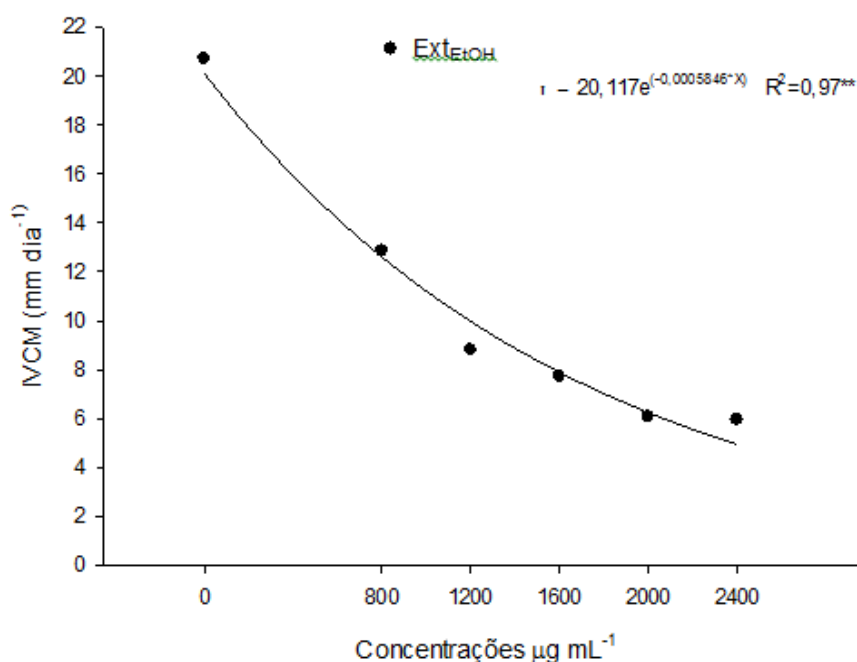


Figura 6. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Fusarium solani* em relação ao extrato Ext_{EtOH} , em diferentes concentrações, para folhas de *Pouteria ramiflora*.

O extrato etanólico de *Matricaria chamomilla* L. apresentou inibição de 50 e 40% no crescimento do fitopatógeno *Fusarium* sp. nas concentrações de 25 e 50%, respectivamente (CAMATTI-SARTORI *et al.*, 2011). Também AIRES e LIMA (2014) trabalhando com o extrato etanólico dos talos de *Piper aduncum* L., relatam atividade fungicida sobre *Candida albicans*, resultados similares a esta pesquisa.

No estudo realizado por LIMA e FERREIRA NETO (2014) verificaram potencial fungicida sobre *Rhizoctonia solani* quando utilizaram o extrato etanólico dos frutos de *Solanum grandiflorum* Ruiz e Pav.

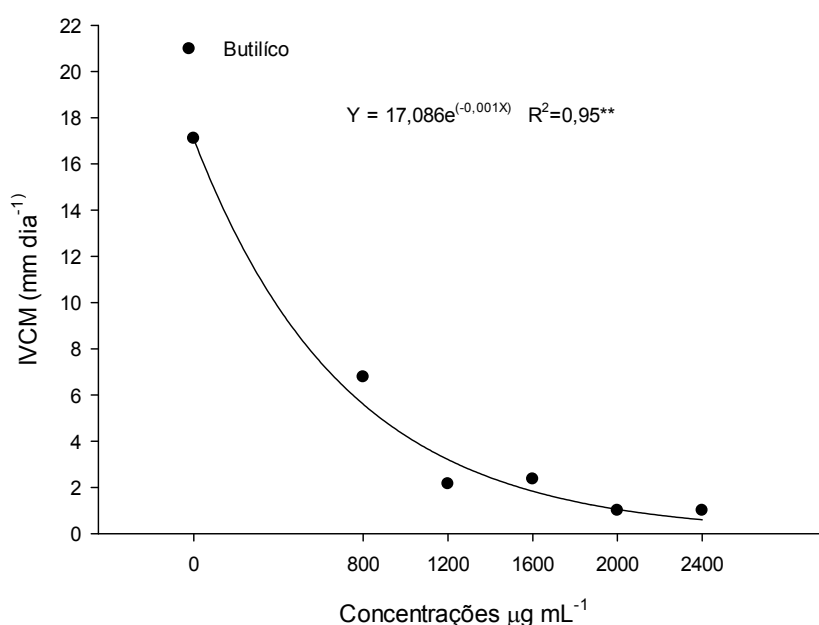


Figura 7. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ao longo de 3 dias, de *Fusarium solani* em relação à fração F_{BuOH} em diferentes concentrações, para folhas *Pouteria ramiflora*.

Em grãos de sorgo armazenados, os solventes álcool butílico e isobutílico tem apresentado eficácia como inibidores antifúngicos (PINTO, 2004), indicando a eficácia destes solventes.

Já PEREIRA (2013), trabalhando com fração n-butanólica de *Cordia verbenacea* DC. não observou atividade antifúngica até a concentração de

2500 µg mL⁻¹ sobre *Candida albicans*; porém para *C. krusei* e *C. glabrata*, notou forte inibição.

Nos resultados encontrados, para alguns solventes, quanto maior a concentração, maior é o efeito fungitóxico, resultados semelhantes aos encontrados por MOTOYAMA *et al.* (2003), que relataram que quanto maior a concentração do extrato vegetal, maior a inibição do crescimento micelial. BATISTA *et al.* (2013) testaram a atividade antifúngica do extrato hidroalcoólico de *Lippia sidoides* Cham. frente aos fungos *Candida guilliermondii* e *C. tropicalis* e também observaram que quando maior a concentração do extrato, maior foi a inibição.

A tendência de se obter melhores resultados no controle de patógenos nas maiores concentrações também foi observada por VENTUROSOSO *et al.* (2011), que trabalharam com extratos de cravo-da-índia e canela sobre o fungo *Fusarium solani*.

Já SOUZA *et al.* (2007), com *Fusarium proliferatum* e extrato de alho, indicaram que as concentrações de 10 e 5% propiciaram os menores diâmetros da colônia, indicando que muitas vezes uma menor concentração também pode ser eficaz. Resultados semelhantes foram encontrados por SILVA *et al.* (2012), com extrato aquoso de cravo-da-índia, que demonstraram significativa atividade antifúngica sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *asinfectum*.

Os resultados obtidos por estes trabalhos demonstram a viabilidade do uso de extratos vegetais para o controle de determinados fungos, o que já tinha sido observado por SILVA *et al.* (2009) com a mesma espécie, ao utilizar extrato pirolenhoso e indicar atividade fungicida para *Aspergillus niger* e *Trichoderma* SSP., confirmando o potencial desta espécie de planta.

Conclusão

A fração que apresentou o menor índice de crescimento micelial na concentração de 2400 µg mL⁻¹, foi a butanólica.

Referências Bibliográficas

AIRES, I. C. S.; LIMA, R. A. Potencial fungicida do extrato etanólico dos talos de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) sobre *Candida albicans in vitro*. **Revista Eletrônica de Biologia**, Sorocaba, v. 7, n. 3, p. 270-280, 2014

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M. RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1998. 464p.

BATISTA, R. S. A.; SILVA, G. S.; MACHADO, S. E. F.; VIEIRA, K. V. M. Atividade antifúngica de alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.) sobre *Candida* spp. **Agropecuária Técnica**, Paraíba, v. 34, n. 1, p 40–49, 2013.

BLUM, L. E. B.; CARES, J. E.; UESGI, C. H. **Fitopatologia: o estudo das doenças de plantas**. 1ed. Brasília: Otimismo, 2006. 265p.

CAMATTI-SARTORI, V.; MAGRINI, F. E.; CRIPPA, L. B.; MARCHETT, C.; VENTURIN, L.; SILVA-RIBEIRO, R. T. Avaliação *in vitro* de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta. v.6, n. 2, p. 117-122, 2011.

CANUTO, G. A. B.; XAVIER, A. A. O.; NEVES, L. C.; BENASSI, M. T. Caracterização físico-química de polpas de frutos da Amazônia e correlação com a sua atividade anti-radical livre. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 4, p. 1196-1205, 2010.

CARDOSO, J. E. Controle de patógenos de solo na cultura do feijão. In: Seminário sobre Pragas e Doenças do Feijoeiro, 4, 1991, 24 a 26 de setembro. Campinas. **Anais...** Campinas: IAC, 1992. p. 45-50.

CARRIÇO, C.; PINTO, Z. T.; DUTOK, C. M. S.; CAETANO, R. L.; PESSANHA, R. R.; CHIL-NUÑEZ, I.; MENDONÇA, P. M.; ESCALONA-ARRANZ, J. C.; REYES-TUR, B.; QUEIROZ, M. M. C. Biological activity of *Pouteria sapota* leaf

extract on post-embryonic development of blowfly *Chrysomya putoria* (Wiedemann, 1818) (Calliphoridae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 24, n. 3, p. 304-308, 2014.

CASA, R. T.; KRIEGER, I.; KUHNE JUNIOR, P. R.; BOGO, A.; MOREIRA, E. N.; RIZZI, F. P. Podridão radicular em feijão no sistema plantio direto. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, Lages, v.10, n.1, p. 37-43, 2011.

CATALOGUE OF LIFE. Net, 2015. **Indexing the world's known species**. 30th January 2015. Disponível em: <<http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/17476063/synonym/17345329>> Acesso em: 05 fev. 2015

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A. Estudo químico de plantas medicinais orientado para análise biológica. Obtenção, determinação e modificação estrutural de compostos bioativo. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. (Eds.). **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001. p. 47-75.

DALPONTE, J. C.; LIMA, E. S. Disponibilidade de frutos e a dieta da *Pseudalopex velutus* (Carnívora – Canidaeae) em um cerrado de Mato Grosso. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 2 (suplemento), p. 325-332, 1999.

DI PIERO, R. M.; NOVAES, Q. S.; PASCHOLATI, S. F. Effect of *Agaricus brasiliensis* and *Lentinula edodes* mushrooms on the infection of passionflower with *Cowpea aphid-borne* mosaic virus. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53, n. 2, p. 269-278, 2010.

DOMINGUES, R. J.; SOUZA, J. D. F.; TÖFOLI, J. G.; MATHEUS, D. R. Ação “in vitro” de extratos vegetais sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani* e

Sclerotium rolfsii. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 76, n. 4, p. 643-649, 2009.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. Construindo a história dos Produtos Naturais. **MultiCiência: Revista Interdisciplinar dos Centros e Núcleos da Unicamp**, Campinas, v. 7, n. 1, p. 1-16, 2006.

FARIA, F. A.; BUENO, C. J.; PAPA, M. F. S. Atividade fungitóxica de *Momordica charantia* L. no controle de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 3, p. 383-389, 2009.

GARCIA, R. A.; MIRANDA, B. A.; LOBO JÚNIOR, M.; ARAÚJO, F. G.; CUNHA, M. G. Efeito de compostos orgânicos sobre podridões radiculares no feijoeiro comum. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 25-32, 2014.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 707-713, 2005.

KUETE, V.; TANGMOUO, J. G.; BENG, V. P.; NGOUNOU, M. F.; LONTSI, D. Antimicrobial activity of *Tridesmostemon omphalocarpoides* Engl. Sapotaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, Yaoundé, v. 104, n. 1-2, p. 5-11, 2006.

LÓPEZ, K. S. E. **Estudo químico e atividade biológica de *Pouteria torta* (Mart.) Radlk. (Sapotaceae)**. 2005. 74f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, Brasília.

MA, J.; YANG, H.; BASILE, M. J.; KENNELLY, E. J. Analysis of polyphenolic antioxidants from the fruits of three *Pouteria* species by selected ion monitoring liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Davis, v. 52, n. 19, p. 5873-5872, 2004.

MOTOYAMA, M. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; FIORI-TUTIDA, A. C. G.; SCAPIM, C. A. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. **Acta Scientiarum. Agronomy**, Maringá, v. 25, n. 2, p. 491-496, 2003.

NASCIMENTO, T. A.; SILVA, M. S.; RABELLO, A. R.; ALVES, R. S.; ESPÍNDOLA, L. S.; SILVA, E. M.; PAULA, J. E.; LIMA, T. R.; VIEIRA, E. A.; ANJOS, J. D. R. N. Extratos orgânicos de plantas “pau-terra” nativas do Cerrado (Gênero *Qualea*; Família: Vochysiaceae) são ativos contra crescimento micelial *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **IX Simpósio Nacional Cerrado-II Simpósio Internacional Savanas Tropicais**, Brasília, 2008.

LIMA, R. A.; FERREIRA NETO, M. Atividade antifúngica do extrato etanólico dos frutos de *Solanum grandiflorum* sobre *Rhizoctonia solani* *in vitro*. **Revista Saúde e Pesquisa**, Maringá, v. 7, n. 1, p. 103-108, 2014.

NOGUEIRA, L. G. **Avaliação do potencial antimicrobiano de *Pouteria* spp. e de triterpenos quinonametídeos com enfoque no *Helicobacter pylori***. 2012. 107f. Tese de Doutorado em Ciências Farmacêuticas do Programa de Pós-Graduação em Ciência Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP, Araraquara – SP.

OLIVEIRA, A. K. M.; PEREIRA, K. C. L.; MULLER, J. A. I.; MATIAS, R. Análise fitoquímica e potencial alelopático das cascas de *Pouteria ramiflora* na germinação de alface. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 32, n. 1, p. 41-47, 2014.

PEREIRA, J. A. S. ***Cordia verbenacea* DC.: Perfil morfo-anatômico, histoquímico, farmacognóstico e avaliação da atividade anti-*Candida* do extrato hidroetanólico e suas frações**. 2013. 52f. Dissertação (Mestrado em

Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara.

PINTO, N. F. J. A. **Patologia de grãos de sorgo**. Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, 2004. 10p. (Embrapa Milho e Sorgo. Circular Técnica, 40).

RAMOS, R. D. S.; SARMENTO, P. D. A.; LINS, T. H.; LEITE LÚCIO, I. M.; CONSERVA, L. M.; BASTOS, M. L. D. A. Atividade antimicrobiana *in vitro* dos extratos hexânico e etanólico das folhas de *Zeyheria tuberculosa*. **Revista da Rede de Enfermagem do Nordeste - Revista Rene**, v. 13, n. 5, p. 1015-1024, 2012.

REIS, E. M.; BEZERRA, R.; SCHEER, O.; MORAES, N. L. M.; CARDOSO, C. A. Manejo das podridões radiculares. In: REIS, E. M. **Doenças na cultura da soja**. Passo Fundo: Aldeia Norte Editora, 2004. p. 115-122.

RIZZI, E. S. **Utilização de extratos foliares de *Pouteria ramiflora* (curriola) sobre os fungos causadores de doenças na agricultura, *Lasiodiplodia theobromae* e *Fusarium solani***. 2015. 80f. Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente e Desenvolvimento Regional, Universidade Anhanguera Uniderp, Campo Grande – MS.

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA, D. B.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P.; AGOSTINI-COSTA, T. D. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 4, p.1215-1221, 2011.

ROSA, A. B. D.; CAMPOS, M. S. T.; PACHECO, T. F.; BARCELOS, R. M.; ANTUNES, R. M.; BELINELO, V. J.; RAMOS, J. M. R. Antimicrobial potential of extract with dichloromethane of leaves from *Solanum cernuum* Vell (Solanaceae). In: **Reunião** Anual da Sociedade Brasileira de Química, 34^a,

2011, Florianópolis. Sociedade Brasileira de Química (SBQ), Florianópolis, p.1, 2011.

SANTOS, R. L.; GUIMARAES, G. P.; NOBLE, M. S. C.; PORTELA, A. S. Analysis of phytotherapy as integrative practice in the National Health System. **Brazilian Journal of Medicinal Plants**, Botucatu, v. 13, n. 4, p. 486-491, 2011.

SBALCHEIRO, C. C. **Ação do biocontrolador com atividade de indução de resistência no controle do cretamento bacteriano comum do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2006. 112f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF. Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo.

SILVA, C. A. M.; SIMEONI, L. A.; SILVEIRA, D. Genus *Pouteria*: chemistry and biological activity. **Revista Brasileira Farmacognosia**, São Paulo, v. 19, n. 2, p. 501-509, 2009.

SILVA, J. L.; 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.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 2000. 460p.

SOUSA, K. A. O.; ORLANDA, J. F. F.; BEZERRA, G. A.; SOUSA, T. P. Estudo do potencial de fungos endofíticos no controle do agente causal da fusariose em tomateiro. **Agrossistemas**, Belém. v. 5, n. 1, p. 50-55, 2013.

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**, Areia, v. 32, n. 6, p. 465-471, 2007.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B. C. A.; SOUZA, F. R. Inibição do crescimento *in vitro* de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 78, n. 1, p. 89-95. 2011.

ZUANAZZI, J. A.; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Eds.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis/Porto Alegre: UFSC/UFRGS, 2003. p. 577-614.

7. Conclusão Geral

Os resultados obtidos indicam que as folhas da espécie *P. ramiflora* apresentam uma série de metabólitos secundários, em diferentes intensidades, com as diferentes frações utilizadas sendo eficazes para sua extração.

Os componentes presentes no extrato e nas diferentes frações influenciaram negativamente no Índice de Velocidade de Crescimento Micelial dos fungos *L. theobromae* e *F. solani*, indicando sua eficácia em restringir o desenvolvimento de tais patógenos. Esta ação está relacionada às diferentes classes de metabólitos secundários extraídos de cada extrato/fração.

A fração que apresentou melhor diminuição no IVCM, em ambos os fungos testados, foi a butanólica, indicando ser a mais indicada para testes futuros devido seu potencial de utilização.

A espécie *P. ramiflora*, levando-se em consideração os resultados obtidos, deverá sofrer novos estudos visando a possível descoberta de novas potencialidades, dentre elas, testes alelopáticos com espécies de plantas daninhas.