

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
TROPICAL

EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE EM
PIMENTA-DE-CHEIRO (*capsicum chinense* Jacq.)

ROSENDO GALILEO LÓPEZ MACEDO

MANAUS - AM

2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
TROPICAL

ROSENDO GALILEO LÓPEZ MACEDO

EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE EM
PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense* Jacq.)

Defesa de tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós- Graduação em Agronomia Tropical, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Agronomia Tropical**.

Orientadora: Profa. Dra. Jânia Lilia da Silva Bentes Lima

Co-orientadora: Profa. Dra. Antônia Queiroz Lima de Sousa

MANAUS - AM

2021

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Macedo, Rosendo Galileo López

M141e Extratos vegetais no controle da antracnose em Pimenta-de-Cheiro (capsicum chinense jacq.) / Rosendo GalileoLópez Macedo . 2021

76 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Jânia Lilia da Silva Bentes Lima
Coorientadora: Antônia Queiroz Lima de Souza

Tese (Doutorado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Controle alternativo. 2. Moléculas bioativas. 3. Extrato deplanta. 4. Antracnose. I. Lima, Jânia Lilia da Silva Bentes. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

ROSENDO GALILEO LÓPEZ MACEDO

**"EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE EM
PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense* Jacq.)"**

Defesa de tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós- Graduação em Agronomia Tropical, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Agronomia Tropical**.

Aprovada em 07 de julho de 2021.

BANCA EXAMINADORA



Profa. Dra. JÂNIA LILIA DA SILVA BENTES LIMA, Orientadora
Universidade Federal do Amazonas



Prof. Dra. DENISE CASTRO LUSTOSA, Membro
Universidade Federal de Oeste do Pará



Profa. Dra. ROSALEE ALBUQUERQUE COELHO NETO, Membro
Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia



Prof. Dr. AFONSO DUARTE LEÃO DE SOUZA, Membro
Universidade Federal do Amazonas



Profa. Dra. LIANE CRISTINE REBOUÇAS DEMOSTHENES,
Membro
Universidade Federal do Amazonas

Aos meus amados pais Norma Ocampo Torres e José Mendoza Rojas, aos meus irmãos Nelly Marina Mendoza Ocampo, José Justo Mendoza Ocampo, Rita Kelly Mendoza Ocampo, Milagros Mendoza Ocampo, Luis Alberto Mendoza Ocampo, Henry Mendoza Ocampo e minha amada companheira Iris Rianne Santana Alves.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A minha querida família e minha amada Companheira Iris Rianne Santana Alves, pelo apoio e ânimos e por acreditarem na finalização e logro na realização deste desafio.

A minha orientadora Dra. Jânia Lilia da Silva Bentes Lima, pela paciência, compreensão e apoio durante todo o processo de formação e realização deste trabalho.

A minha Co-orientadora Dra. Antônia Queiroz Lima de Sousa, por sua orientação e compromisso na realização deste trabalho.

Ao Dr. Afonso Duarte Leão de Souza, por abrir-me as portas do laboratório da central analítica e pela orientação na extração e identificação dos compostos presentes nos extratos das plantas.

Ao Dr. Felipe Moura Araújo da Silva, pela realização da análise química e identificação dos compostos presente nos extratos vegetais.

Aos colegas do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia – FCA, Dra. Ana Francisca Tibúrcia Amorim Ferreira e Ferreira, Adriene de Oliveira Amaral e Cléo Carvalho Ohama, pelos gratos momentos, apoio e colaboração.

A Universidade Federal do Amazonas – UFAM, e ao Programa de Pós-graduação em Agronomia Tropical - PGATR, pela oportunidade de pertencer a esta grande instituição e por conceder a infraestrutura para realização deste trabalho.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM, pela concessão da Bolsa para realização da pesquisa.

Resumo

A Amazônia é o centro de diversidade da espécie *Capsicum chinense*, sendo a pimenta-de-cheiro a variedade mais cultivada na região, e presente nos pratos da culinária local. O surgimento da antracnose limita a produção da hortaliça podendo levar a 100% de perda na produção. Fungicidas são recomendados para o manejo, com a desvantagem de selecionar variantes resistente, contaminar o ambiente e afetar a saúde humana. Os extratos de plantas desperta o interesse para o manejo de fitopatógenos, por apresentarem propriedades antimicrobianas e com potencial biotecnológico para produção de novos compostos antifúngicos. O objetivo deste trabalho foi estudar o uso de extratos vegetais brutos e fracionados de *Croton Cajucara*, *Piper marginatum* e *Curcuma longa* na inibição do crescimento micelial, esporulação e germinação dos conídios de *Colletotrichum* sp. *in vitro* e no controle da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro e, identificar os principais compostos químicos presentes nos extratos vegetais. Foram conduzidos experimentos, com extratos aquosos e fracionados, utilizando folhas (*C. cajucara* e *P. marginatum*) e rizoma (*C. longa*) para extração dos compostos. Para obtenção do extrato aquoso foi utilizado água à temperatura ambiente (extrato frio) e à 70 °C (extrato quente). Para obtenção das frações, as extrações foram realizadas com solventes, metanol, acetato de etila e hexano. As frações hexânica (FH) e acetato de etila (FAE) de *C. longa*, apresentaram melhor potencial na inibição do desenvolvimento fúngico e foram selecionadas para identificação dos compostos majoritários. Os extratos aquosos e fracionados foram avaliados para o controle da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro. Os resultados mostraram que não houve diferença significativas entre os tratamentos utilizando extratos aquosos para o crescimento micelial e esporulação dos conídios. Houve redução da incidencia da antracnose em 33,3% e 41,7% utilizando os extratos *P. marginatum* e *C. cajucara* e de 100% para o extrato de *C. longa*. Nos extratos fracionados observou-se que a FH de *C. longa* foram os mais promissores inibindo em 59,2% o crescimento micelial, 49,8% a germinação dos conídios e redução da incidencia da antracnose em 33,3%. Os compostos identificados foram ar-turmerona (48,71%) e ar-turmerol (11,51%) como cospostos da FH de *C. longa*. Os resultados mostram o potencial dos extratos no controle de *Colletotrichum* sp. e da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro.

Palavras chave: Controle alternativo, moléculas bioativas, antracnose.

Abstract

The Amazon is the center of diversity for the *Capsicum chinense* species, with sweet pepper being the most cultivated variety in the region, and present in local cuisine dishes. The emergence of anthracnose limits the production of vegetables and can lead to 100% loss in production. Fungicides are recommended for management, with the disadvantage of selecting resistant variants, contaminating the environment and affecting human health. Plant extracts arouse interest in the management of phytopathogens, as they have antimicrobial properties and biotechnological potential for the production of new compounds antifungals. The objective of this work was to study the use of crude and fractioned plant extracts of *Croton Cajucara*, *Piper marginatum* and *Curcuma longa* to inhibit mycelial growth, sporulation and germination of *Colletotrichum* sp. in vitro and in the control of anthracnose in sweet pepper fruits and to identify the main chemical compounds present in plant extracts. Experiments were conducted, with aqueous extracts and another with fractionated extracts, using leaves (*C. cajucara* and *P. marginatum*) and rhizome (*Cur. longa*) to extract the compounds. To obtain the aqueous extract, water at room temperature (cold extract) and at 70 °C (hot extract) was used. To obtain the fractions, extractions were performed with solvents, methanol, ethyl acetate and hexane. Hexanic (FH) and ethyl acetate (FAE) fractions of *Cur. long*, showed better potential in inhibiting fungal development and were selected for identification of major compounds. Aqueous and fractionated extracts were evaluated for the control of anthracnose in sweet pepper fruits. The results showed that there was no significant difference between treatments using aqueous extracts for mycelial growth and conidia sporulation. There was a reduction in the incidence of anthracnose by 33.3% and 41.7% using the extracts *P. marginatum* and *C. cajucara* and 100% for the extract of *C. longa*. In the fractionated extracts it was observed that the FH of *C. longa* were the most promising, inhibiting 59.2% mycelial growth, 49.8% conidia germination and reducing the incidence of anthracnose by 33.3%, and the identified compounds were ar-turmerone (48.71%) and ar -turmerol (11.51%) as compounds of the FH of *C. long*. The results show the potential of the extracts to control *Colletotrichum* sp. and anthracnose in sweet pepper fruits.

Keywords: Alternative control, bioactive molecules, anthracnose.

Sumário

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Aspecto gerais do gênero <i>Capsicum</i>	14
2.2	Aspectos gerais de <i>Capsicum chinense</i>	15
2.3	Características de gênero <i>Colletotrichum</i> e manifestação da antracnose em pimenta-de-cheiro	16
2.4	Extratos vegetais no controle de fitopatógenos	19
2.5	Mecanismo de ação antimicrobiana dos compostos ativos das plantas	20
2.6	Extratos vegetais na indução de resistência	22
2.7	Plantas medicinais com potencial antifúngico	23
2.7.1	<i>Croton cajucara</i>	23
2.7.2	<i>Piper marginatum</i>	24
2.7.3	<i>Curcuma longa</i>	25
3	OBJETIVOS.....	28
3.1	Objetivos geral.....	28
3.2	Objetivos específicos	28
4	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	29
	Capítulo 1	39
	Produtos naturais no controle de <i>Colletotrichum</i> sp. associado a pimenta-de-cheiro (<i>Capsicum chinense</i> Jacq.).....	40
5	Introdução.....	41
6	Material e Métodos	43
6.1	Coleta do material vegetal.....	43
6.2	Obtenção dos extratos vegetais a frio e a quente.....	43
6.3	Obtenção do isolado de <i>Colletotrichum</i> sp.	43
6.4	Efeito dos extratos vegetais sobre o crescimento micelial e produção de conídios de <i>Colletotrichum</i> sp.	43
6.5	Efeito dos extratos vegetais frio (EF) na incidência da antracnose em frutos destacados de pimenta-de cheiro (<i>Capsicum chinense</i>)	44
7	Resultados	44
8	Discussão.....	45
9	Conclusão	46
10	Referências não conferi	47
	Capítulo 2	51

COMPOSTOS ATIVOS OBTIDOS DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE	
<i>Colletotrichum</i> SP. ASSOCIADO A PIMENTA-DE-CHEIRO (<i>Capsicum chinense</i> Jacq.).. 52	
11	INTRODUÇÃO 54
12	MATERIAL E MÉTODOS 57
12.1	Obtenção do isolado de <i>Colletotrichum</i> sp. 57
12.2	Frações vegetais sobre o crescimento micelial, esporulação e germinação dos conídios de <i>Colletotrichum</i> sp..... 58
12.3	Atividade da Fração hexanica (FH) de <i>Curcuma longa</i> sobre o crescimento micelial e esporulação dos conídios de <i>Colletotrichum</i> sp. 59
12.4	Obtenção das subfrações hexânica (FH) e acetato de etila (FAE) de rizomas de <i>Curcuma longa</i> 59
12.5	Atividade antifúngica das FH e FAE 60
12.6	Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) das frações hexânicas (FH) e de acetato de etila (FAE) de <i>Curcuma longa</i> 61
12.7	Análise química por ionização química a pressão atmosférica acoplado a espectrometria de massas (APCI-MS) das FH e FAE de <i>Curcuma longa</i> 61
12.8	Análises por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas (CG-MS) 62
12.9	Fração hexanica (FH) de <i>Curcuma longa</i> na incidência da antracnose em frutos destacados de pimenta-de-cheiro. 62
13	RESULTADOS..... 63
13.1	Frações vegetais sobre o crescimento micelial, esporulação e germinação dos conídios de <i>Colletotrichum</i> sp..... 63
13.2	Determinação da inibição do crescimento micelial das subfrações acetato de etila (FAE) e fração hexânica e (FH) de <i>Curcuma longa</i> 64
13.3	Perfil espectrométrico das frações acetato de etila (FAE) e frações hexânicas (FH) de <i>Curcuma longa</i> 65
13.4	Cromatograma das FAE e FH de <i>Cur. longa</i> 67
13.5	Controle da antracnose..... 68
14	DISCUSSÃO 69
15	CONCLUSÃO 71
16	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS 72

1 INTRODUÇÃO

A região Amazônica é considerada o centro de diversidade das espécies de *Capsicum chinense* Jacq., sendo a variedade pimenta-de-cheiro a mais cultivada pela população local (MARTINS et al., 2020; MOSES et al., 2014). O Estado do Pará foi o maior produtor de pimenta com produção de 18.048 t. (IBGE, 2017). No Estado do Amazonas, em 2019 a produção foi de 6.546,08 t. (IDAM, 2019)

A pimenta-de-cheiro possui importância econômica na região devido a alta demanda local dos frutos para o consumo *in natura* presente em muitos pratos da culinária regional (CHAVES; FURTADO, 2017), fato que tem contribuído para implantação de cultivos comerciais, os quais constituem importantes fontes de renda para as populações locais (CARDOSO et al., 2014).

O surgimento de doenças fitopatogênicas limita a produção de pimenta-de-cheiro na região. As doenças em pimentas-de-cheiro podem ser causadas por fitopatógenos, como nematoides, bactérias e fungos, sendo a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum* spp., uma das principais doenças de parte aérea, podendo causar perdas de até 100% na produção (HANADA et al., 2011). Os sintomas ocorrem em ramos e folhas, sendo os frutos a parte comercializada a mais afetada. As lesões inicialmente são pequenas e escuras, circulares e deprimidas, que progridem formando círculos concêntricos e pontos negros que corresponde aos acérvulos do fungo de onde surge uma massa alaranjada constituída pelos conídios do fungo (ALMEIDA et al., 2017; HANADA et al., 2011).

Medidas de manejo são sugeridas para o manejo da antracnose, como plantio menos adensado, eliminação de restos de cultura, rotação de cultura com espécies não hospedeira do fungo, uso de sementes certificadas e aplicação de fungicidas (ALI et al., 2016), sendo os fungicidas a principal medida adotada para o controle da doença. No entanto, o uso consecutivo desse produtos podem selecionar fitopatógenos resistentes, o que reforça a necessidade da utilização de outras alternativas para o controle da antracnose, como por exemplo, extratos e óleos vegetais (AVANÇO et al., 2017). Esses produtos são relatados por terem compostos bioativos que inibem o desenvolvimento de muitos microrganismos, como bactérias e fungos fitopatogênicos (HU et al., 2015).

Pesquisas relatam que os extratos e óleos essenciais extraídos de plantas que apresentam potencial antimicrobiano podem inibir parcial ou totalmente o crescimento micelial,

esporulação e germinação de conídios de fungos fitopatogênicos *in vitro* e *in vivo*, agindo diretamente sobre os fitopatógenos ou indiretamente, ativando mecanismos de indução de resistência nas plantas (DRAZ et al., 2019). Compostos biologicamente ativos presente nos extratos e óleos essenciais que mostraram potencial de inibir fitopatógenos foram identificados e separados através de análise química, como os sesquiterpenos α -turmerona, β -turmerona (HU et al., 2017), compostos fenólicos, como mirecitina, ácido ferúlico, ácido cafeico, ácido gálico e quercetina (MALDONADO et al., 2020), taninos hidrolisáveis, cumarinas e flavonóides (MÂCEDO et al., 2018).

Fatos que foram observadas em trabalhos como de Ngegba et al. (2018) que utilizaram os extratos das plantas *Azadirachta indica* A. Juss., *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A.Gray e *Chromolaena odorata* (L.) R.M.King & H.Rob., nas concentrações de 100%, 80%, 60%, 40% e 20%, inibiram o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Geotrichum candidum* e *Rhizopus stolonifer*, observando-se que a concentração 100% do extrato inibiu 92% o crescimento micelial dos fungos. Colpas et al. (2009), observaram que o extrato de folhas de *Ocimum gratissimum* nas concentrações de 10, 25, 40 e 50% induziram a produção de fitoalexinas, desoxianocianidinas, em cotilédones de soja e da 3-desoxianocianidinas em mesocótilos de sorgo.

Na Amazônia existe uma diversidade de espécies de plantas com potencial medicinal e biotecnológico e outras que foram introduzidas e são utilizadas na medicina popular como medicamentos para o tratamento de doenças e como antimicrobianos (LEITE et al., 2017). As espécies *Croton cajucara* Benth, *Piper marginatum* Jacq. e *Curcuma longa* Linn. são relatadas por possuírem compostos de importância na medicina tradicional e farmacológica e com grande importância na indústria biotecnológica que pode levar ao desenvolvimento de novas moléculas para controle de fitopatógenos na agricultura (NASCIMENTO et al., 2017).

A espécie *Croton cajucara* Benth, é um arbusto que apresenta casca pulverulenta e folhas oval-lanceoladas, pertencente à família Euphorbiaceae e ocorre amplamente na região da floresta amazônica brasileira (AZEVEDO et al., 2014). As infusões da casca do caule têm sido utilizadas para o tratamento de doenças hepáticas, diabetes, diarreia, dor de estômago, hepatite, malária (NASCIMENTO et al., 2017) e como antimicrobiano no controle de desenvolvimento fúngico, como *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Rhizopus oryzae* e *Fusarium solani* (AZEVEDO et al., 2013). Os

principais compostos com atividade biológica de importância farmacêutica e biotecnológica são 7-hidroxicalameneno, α -pineno, linalol e β -cariofileno (AZEVEDO et al., 2013).

Piper marginatum Jacq., pertence à família Piperaceae, é um arbusto aromático conhecido como “caapeba”, possui pecíolo alado e folhas em forma de coração, principais características que facilitam a sua identificação. *P. marginatum* encontra-se distribuído no Centro e Sul das Américas, os extratos das folhas é utilizada para tratamento de doenças gastrointestinais, reumatismo e tumores e antimicrobiana (BRÚ e GUZMAN, 2016). Os principais compostos encontrados com propriedade antifúngica contra o fungo *Rhizopus oryzae* foram os compostos, propiopiperone, δ -3-Careno, (Z)- β -ocimeno, (E)- β -Ocimeno, Safrole, entre outros (ALMEIDA et al., 2018). O efeito do extrato metanólico de *P. marginatum* foi avaliado contro o fitopatógeno *Colletotrichum scovillei*, agente causal da antracnose em pimentão, observando-se 82,4% de diminuição do crescimento micelial e 81,2% de inibição o diâmetro da lesão em frutos (ARAUJO et al., 2014).

A *Curcuma longa* Linn. é uma planta herbácea perene pertencente à Família Zingiberaceae, nativa do sul da Ásia tropical, mas cultivada extensivamente em todo o mundo; estas plantas crescem até um metro de altura apresentando folhas longas e oblongas, sendo o órgão mais utilizada o rizoma, com comprimento de 7 cm e diâmetro de 2,5 cm (BOTANICAL, 2021; EFLORAS, 2021). O pó do açafrão é usado como especiaria no preparativo de alimentos, proporcionando sabor devido a presença de óleo essencial (NELSON et al., 2017) e utilizado na indústria biotecnológica de alimentos como conservante (GUL e BAKHT, 2015). O açafrão é utilizado para o tratamento de doenças urológicas, hepatobiliares, anticancerígena gastrointestinais, entre outras (TIAN et al., 2021). Apresenta potencial contra fitopatógenos como *Aspergillus flavus*, inibindo 93,4% o crescimento micelial quando utilizando na concentração de 8 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ do óleo essencial, sendo os principais compostos encontrado ar-turmerona, α -turmerona, β -turmerona (HU et al., 2017).

Considerando o potencial das propriedades antimicrobiana e antifúngicas de *C. cajucara*, *P. marginatum* e *C. longa*, este trabalho teve como objetivo estudar o potencial destas espécies no controle da antracnose em pimenta-de-cheiro, visando a obtenção de um método alternativo aos fungicidas químicos e, a identificação de moléculas com potencial para o controle da doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspecto gerais do gênero *Capsicum*

As pimentas pertencem à Família Solanaceae e ao gênero *Capsicum* e são nativas das Américas, com ampla distribuição que abrange desde o México até a Argentina Central, incluindo países como Peru, Bolívia, Colômbia, Equador, Brasil e Paraguai, com aproximadamente 35 espécies identificadas (CARRIZO-GARCIA et al., 2016), sendo cinco espécies domesticadas e cultivadas no mundo e com grande importância econômica, sendo estas: *Capsicum annuum* L., *Capsicum chinense* Jacq., *Capsicum frutescens* L., *Capsicum baccatum* L. e *Capsicum pubescens* Ruiz e Pav. (PICKERSGILL, 1997).

Plantas do gênero *Capsicum*, são arbustos que apresentam flores com corolas carnudas estreladas com diversos padrões de pigmentação; os frutos apresentam bagas globosas de diferentes tamanhos e cores; o cálice inteiro apresenta formato de xícara e com cinco a dez dentes como prolongamento nervoso (CARRIZO-GARCIA et al., 2016). A presença de capsaicinóides confere sabor ardente ou pungente aos frutos (TANAKA et al., 2017). Estes compostos são sintetizados e acumulados na célula epidérmica da placenta, mas também são encontrados no pericarpo, sementes e outras estruturas vegetativas, como folhas e caule (GUILLEN; TITO; MENDOZA, 2018), que são sintetizados a partir da vanililamina, derivada da fenilalanina, com ácidos graxos ramificados, derivadas da valina ou leucina (HAN et al., 2019; RODRÍGUEZ; ALEJO, 2019), sendo a capsaicina e dihidrocapsaicina as mais comuns e, em menor grau, norcapsaicina, nordihidrocapsaicina, homocapsaicina e homodihidrocapsaicina (RODRÍGUEZ e ALEJO, 2019).

O consumo das pimentas está relacionada à presença de capsaicinóides por serem muito apreciada na culinária mundial devido ao sabor agradável e pungente que proporciona aos alimentos, podendo ser consumidas frescas ou processadas e utilizadas como condimentos, molhos e conservas (CHAVES e FURTADO, 2017), ou na indústria farmacêutica por apresentarem propriedades antimicrobianas, antioxidante e anticancerígeno (GOCI et al., 2021) e como uso auto defensivo na forma de *spray* (KRISHNATREYYA et al., 2018).

Os principais produtores mundiais de pimentas do gênero *Capsicum* são a China, com 12.656.804,92 t de pimentas produzidas seguida do México com 2.007.163,62 t e Turquia com 1.819.297,19 t. (FAO, 2019). No Brasil, a produção de pimentas foi de 46.702 sendo o Estado do Pará o maior produtor de pimentas com 18.048 t. (IBGE, 2017).

2.2 Aspectos gerais de *Capsicum chinense*

Na região Norte do Brasil, o Estado do Amazonas é um dos centros de origem das espécies de *C. chinense* (MOSES et al., 2014; MOSES et al., 2012), destacando-se pela grande variabilidade morfológica (morfotipos) expressas nas diferentes formas (alongados arredondados, triangulares campanulados e retangulares), tamanhos (muito variável), cores (amarelo, amarelo-laranja, laranja-pálido, laranja, vermelho, vermelho-escuro) e pungência dos frutos (baixa, intermediária, alta, superquente) (ARANHA et al., 2017; NEITZKE et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2011).

Pesquisas relatam que dentro da espécie *C. chinense* existe uma variação de intensidades de pungência, expressadas em Unidades de Calor de Scoville (SHU), variando de não pungente (0) a extremamente pungente (2.772.533,5), que é atribuída às diferentes concentrações de capsaicinóides presente nos frutos (ARANHA et al., 2017; BOSLAND; COON; REEVES, 2012). Na região amazônica brasileira diversos morfotipos de *C. chinense* são cultivados pelos pequenos agricultores como a pimenta rosa, dedo de moça amarela e vermelha, murupi, olho de peixe, malagueta, muripizão, pimenta-de-tempero, pimenta-pé-de-cachorro, pimenta-doce, pimenta-de-bico, pimenta-pitanga, pimenta-cabaça, pimenta-de-bode-ardida, curuçazinho, cumari, e pimenta-de-cheiro (MARTINS et al., 2020; COSTA et al., 2015; CARVALHO et al., 2014; NEITZKE et al., 2014).

Segundo o Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas (IDAM, 2019), no relatório trimestral da produção agrícola para o estado, a produção de pimenta de cheiro foi de 6.546,08 t, sendo uma hortaliça agrícola de importância econômica no Estado do Amazonas, presente praticamente em todos os pratos dos amazonenses, consumida de forma *in natura* nas saladas ou cozidos juntamente com os alimentos. Dentro do morfotipo pimenta de cheiro existe diversidade genética expressas nas diferentes formas, tamanhos, cores e pungência dos frutos (MARTINS et al., 2020; ARAÚJO et al., 2018, DOMENICO et al., 2012). Em pimenta-de-cheiro o formato do fruto pode ser alongado, triangular, em bloco, redondo e campanulado, a cor do fruto varia de vermelho, salmão, amarelo e laranja, o comprimento do fruto varia de 2,3 cm a 7,4 cm, a largura do fruto varia de 1,1 cm a 2,5 cm e a pungência varia de acordo ao conteúdo de capsaicina em frutos frescos de 0 a 71,5 mg.g⁻¹ (DOMENICO et al., 2012).

Problemas fitossanitários estão entre os fatores que limitam a produção de pimenta-de-cheiro, como doenças causadas por nematoides (PINHEIRO et al., 2014), bactérias (ROSSATO et al., 2018) e fungos, sendo a antracnose, causada por *Colletotrichum* spp. (SILVA et al., 2018), a principal doença da cultura, levando a perdas de até 100% na produção da hortaliça (HANADA et al., 2011).

2.3 Características de gênero *Colletotrichum* e manifestação da antracnose em pimenta-de-cheiro

O gênero *Colletotrichum* pertence à Família Glomerellaceae, Classe Sordariomycetes, Divisão Ascomycota (www.mycobank.org). Este gênero inclui patógenos de grande importância causando doenças em ampla variedade de plantas lenhosas e herbáceas, com distribuição principalmente tropical e subtropical, existindo também algumas espécies que afetam culturas de climas temperados (CANNON et al., 2012).

Em 2012, o gênero *Colletotrichum* estava composto por 119 espécies (CANNON et al., 2012), e em 2016 o número de espécies identificadas foi de 189 (JAYAWARDENA et al., 2016) e, ainda continuam sendo identificadas novas espécies em *Colletotrichum* como a identificada por Khodadadi et al. (2020), *Colletotrichum noveboracense*, isolado de frutos de maçã. As espécies de *Colletotrichum* estão agrupadas em complexos de espécies, sendo que cada complexo de espécie está composto por diversas espécies distintas (DAMM et al., 2012), existindo na atualidade 11 complexos de espécies, sendo estes, orbiculare, boninense, truncatum, gloeosporioides, gigasporum, dematium, acutatum, destructivum, spaethianum, graminicola e caudatum (JAYAWARDENA et al., 2016). Mais três complexos foram propostos, dracaenophilum, magnum e orchidearum (DAMM et al., 2019).

Nas décadas passadas a identificação das espécies de *Colletotrichum* era baseada em características como: espécie de hospedeiro, substrato, tamanho e forma de conídios e apressórios, taxa de crescimento em cultura, cor das culturas, presença ou ausência de cerdas, bem como pela comparação das sequências do espaçador transcrito interno (ITS) do rDNA nuclear (DAMM et al., 2014; WEIR et al., 2012). Este método de identificação não são os mais recomendados porque muitas dessas características morfológicas que mudam sob diferentes condições de crescimento, como meio de cultura utilizada para crescimento, temperatura, regime de luz, e as regiões ITS conhecidas são consideradas insuficientes para delimitar espécies em *Colletotrichum* (KHODADADI et al., 2020).

Atualmente, análise multilocus são utilizados para identificação de espécies em *Colletotrichum*, além de ITS, locis como a glutamina sintetase (GS), gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), calmodulina (CAL), actina (ACT), quitina sintase (CHS-1), β -tubulina (TUB2), DNA liase (APN2) e a região intergênica entre DNA liase e o gene do tipo de acasalamento (Mat1-2) (ApMat) (KHODADADI et al., 2020; JAYAWARDENA et al., 2016).

O gênero *Colletotrichum* foi eleito o oitavo grupo mais importante de fungos fitopatogênicos de plantas no mundo, sendo *Magnaporthe oryzae* eleito em primeiro, como o mais devastador entre todas as espécies dos fungos (DEAN et al., 2012). A doença causada pelo fitopatógeno *Colletotrichum* spp. é geralmente conhecida como antracnose que deriva de uma palavra grega que literalmente significa “doença do carvão”, é o nome que se refere às lesões necróticas escuras, e sob condições favoráveis podem formar acérvulos que produzem massas mucilaginosas de conídios de cor laranja a rosa (DOWLING et al., 2020).

No gênero *Capsicum* a antracnose causa extenso danos na pré e pós-colheita em frutos de pimenta e, mesmo pequenas lesões reduzem seu valor comercial (RANATHUNGE et al., 2012; THAN et al., 2008). O fitopatógeno *Colletotrichum* spp. tem potencial de transmissão através das sementes, solo, água e ar, podendo causar danos na fase de mudas e nas partes aéreas das plantas (SAXENA et al., 2016). Diferentes espécies *Colletotrichum* podem ser associados a antracnose na mesma planta hospedeira (SAXENA et al., 2016). No mundo foram relatadas pelo menos doze espécies de *Colletotrichum* causando antracnose em pimentas *Capsicum* entre eles encontrasse *Colletotrichum gloeosporioide*, *Colletotrichum siamense*, *Colletotrichum fructicola*, *Colletotrichum truncatum*, *Colletotrichum scovillei*, *Colletotrichum brevisporum* e *Colletotrichum sichuanensis* (LIU et al., 2016) *Colletotrichum acutatum* (XIA et al., 2011; SUWOR et al., 2015), *Colletotrichum coccodes*, (SHARMA et al., 2011) *Colletotrichum dematium* (SHIN et al., 2000), *Colletotrichum boninense* (DIAO et al., 2013) e *Colletotrichum cliviae* (SAINI et al., 2017). No Brasil, cinco espécies de fungo foram identificadas causando antracnose em pimentas no Nordeste brasileiro, *Colletotrichum brevisporum*, *Colletotrichum scovillei*, *Colletotrichum tropicale*, *Colletotrichum siamense*, e *Colletotrichum truncatum* (sinônimo de *Colletotrichum capsici*) (SILVA et al., 2017; KATOCH et al., 2017). No Amazonas, três espécies de *Colletotrichum* foram identificadas em plantas de pimenta-de-cheiro sendo, *C. siamense*, *C. scovillei*, e *C. brevisporum* (OLIVEIRA et al., 2017; ALMEIDA et al., 2017).

Os sintomas da antracnose em pimenta-de-cheiro inicialmente consistem em pequenas lesões marrom-escuras, circulares, deprimidas, com bordas definidas, progredindo para o centro e tornando-se cinza a preto, com círculos concêntricos de acérvulo que muitas vezes quando molhado produzem massas de conídios de cor laranja a rosa (ALMEIDA *et al.*, 2017; HANADA *et al.*, 2011). No Brasil, perdas da produção de até 100% foram relatadas no Estado do Amazonas em pimenta-de-cheiro sob condições de campo (ALMEIDA *et al.*, 2017).

O ciclo da doença começa a partir de sementes, folhas e frutos infectados pelo *Colletotrichum*; o fitopatógeno inicia a sua infecção no estágio vegetativo da planta através da penetração direta dos apressórios na cutícula da planta denominada fase intramural endofítica, sem causar dano a planta e serve como fonte potencial primária de inoculo para infecção do fruto, a fase necrotrófica do fitopatógeno inicia no estágio de amadurecimento das plantas e frutos causando danos na pré e pós-colheita dos frutos (RANATHUNGE *et al.*, 2012), e a infecção é geralmente favorecida por condições quentes e úmidas (DOWLING *et al.*, 2020).

Medidas para o controle da doença são recomendadas, como adoção de práticas culturais, uso de sementes certificadas, plantio menos adensado, eliminação de restos de cultura, rotação de cultura com espécie de planta não hospedeira do fungo (ALI *et al.*, 2016). O controle mais desejável para a antracnose seria o uso de variedades resistentes, porém, no mercado não existem variedades resistentes para a antracnose em pimenta-de-cheiro e o controle químico é o mais utilizado (GASPAROTTO; PEREIRA; BERNI, 2014). Encontrar variedade resistente a doença antracnose em pimentas de cheiro torna-se muito difícil, porque diversas espécies de *Colletotrichum* estão associados a antracnose na mesma planta hospedeira (OLIVEIRA *et al.*, 2017; ALMEIDA *et al.*, 2017), podendo uma dessas diversas espécies de *Colletotrichum* superar a resistência da planta hospedeira, tornando difícil a manutenção da resistência a longo prazo (SILVA *et al.*, 2020).

Pesquisas realizadas na Tailândia relataram ter encontrado três genes recessivos, *co1*, *co2* e *co3* em *C. chinense* PBC932 que conferem resistência a antracnose (MAHASUK *et al.*, 2009; PAKDEEVARAPORN *et al.*, 2005). No entanto a resistência em *C. chinense* PBC932 foi quebrada frente a um patotipo (PCc1) de *C. truncatum*, mostrando a planta hospedeira alta suscetibilidade a doença (MONTRI *et al.*, 2009).

Existe a possibilidade que a situação se torne ainda mais crítica se nas populações de pimentas-de-cheiro for encontrado fluxo de alelos dentro e entre as populações fitopatogênicas

na região onde se cultiva esta planta, indicando elevada variabilidade gênica e, conseqüentemente, elevado potencial adaptativo do fitopatógeno, podendo quebrar a resistência do hospedeiro e desenvolver tolerância aos fungicidas (RANATHUNGE et al., 2009).

O uso de fungicidas químicos é o mais utilizado para o controle da antracnose, mas como relatado, o fitopatógeno pode desenvolver tolerância, e o uso consecutivo desses produtos pode levar a seleção de microrganismos resistentes (FORCELINI et al., 2016). Segundo o Comitê de Ação de Resistência a Fungicidas (do inglês, *Fungicide Resistance Action Committee*) (FRAC, 2019), os complexos fúngicos *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, agentes causais da antracnose em pimenta, e em outras várias culturas, foram registrados na lista de patógenos com risco médio de desenvolvimento de resistência aos fungicidas, tornando-se problema sério para o controle da antracnose, porque os fungos *C. siamense*, *C. brevisporum* e *C. scovillei* fazem parte do complexo de *C. gloeosporioides* e *C. acutatum*, agentes causais da antracnose em pimenta-de-cheiro (OLIVEIRA et al., 2017).

Existem evidências de que algumas espécies de *Colletotrichum* mostraram resistência a alguns fungicidas, como *C. capsici* (syn. *C. truncatum*), agente causal da antracnose em pimenta, resistente aos fungicidas de ação multi-sítio como o Zineb (Ditiocarbamato) e sulfato de cobre (REDDY; RAMAPANDU; RAO, 1981). Forcelini et al. (2016), relatam que *C. acutatum*, agente causal da antracnose em morango, foi resistente aos fungicidas inibidores extracelulares de quinona (QoI) como a Azoxistrobina e Piraclostrobina. Chen et al. (2018), relatam que os isolados de *C. truncatum* provenientes de pêsego, soja, citros e begônia foram resistentes a alguns fungicidas inibidores da 14 α -desmetilase (DMI) como o Tebuconazol, Metconazol, Fenbuconazol e flutriafol.

2.4 Extratos vegetais no controle de fitopatógenos

Uma ampla gama de plantas medicinais e aromáticas foram identificadas e estão sendo exploradas por seus óleos essenciais e como fonte de matérias-primas utilizadas nas indústrias de fragrâncias, cosmética, perfumaria e farmacêuticas, por apresentarem diversos compostos ativos com propriedade farmacologia e como agentes antimicrobianos (SWAMY et al., 2015).

As plantas medicinais são extraídas e processadas para consumo direto como fitoterápicos ou tradicionais utilizados no tratamento de doenças como, inflamações, doenças cardiovasculares, Alzheimer, ansiedade, depressão entre outras. Recentemente, a planta como fonte de medicamento está ganhando popularidade por causa de sua origem natural,

disponibilidade nas comunidades locais, facilidade de administração e provavelmente com menos efeitos adversos à saúde (SWAMY et al., 2016).

Abubakar e Haque (2020), definiram planta medicinal como, planta que contém ingredientes ativos ou metabólitos secundários que possuem atividade biológica. Vários metabólitos secundários foram identificados, como alcalóides, terpenóides, saponinas, compostos fenólicos, flavonóides e taninos, que são biossintetizados em diferentes órgãos e partes da planta, como flores, folhas, frutos e raízes (LEZOUL et al., 2020; DI MARTILE et al., 2020). Os metabólitos secundários são secretados sob condições específicas de estresse biótico e abiótico, e desempenham papel importante protegendo a planta de herbivoria, age como inseticida, e para proteger-se de microrganismos fitopatogênicos como ferramenta de defesa (SWAMY et al., 2016). Cada composto biológico pode exibir um mecanismo de ação diferente contra os microrganismos fitopatogênicos, isso dependerá da estrutura presente nas diversas espécies microbianas como bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e fungos fitopatogênicos que diferem em suas composições de membrana celular e parede celular (RAUTENBACH et al., 2016).

Diversas metodologias são utilizadas para a extração dos metabólitos secundários presentes nas plantas medicinais, como maceração, infusão, digestão, decocção, percolação, extração de soxhlet, extração assistida por micro-ondas, extração assistida por ultrassom, e diversos solventes são utilizados para a extração dos compostos ativos, que são classificados de acordo com sua polaridade, de menor a maior polaridade, sendo n-hexano o menos polar e a água o mais polar (ABUBAKAR; HAQUE, 2020; SASIDHARAN et al., 2011). A extração dos metabólitos secundários dependem da afinidade que o composto tem pelo solvente utilizado, sendo que alguns metabólitos têm afinidade por solventes polares e outros por solventes apolares, que resultará na inibição ou não dos microrganismos, se os compostos bioativos fossem avaliados (SALIH et al., 2020; LIRA-DE LEÓN et al., 2014). Métodos como a cromatografia de camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia de papel (CP) e cromatografia gasosa (GC) são usadas na separação e purificação dos metabólitos secundários (ABUBAKAR; HAQUE, 2020; ALTEMIMI et al., 2017).

2.5 Mecanismo de ação antimicrobiana dos compostos ativos das plantas

Os compostos bioativos extraídos das plantas agem desestabilizando principalmente a arquitetura celular, levando à quebra da integridade da membrana e aumento da permeabilidade, interrompendo muitas atividades celulares, como a produção de energia (acoplada à

membrana), transporte através da membrana e funções regulatórias metabólicas, isto ocorre devido à natureza lipofílica dos óleos essenciais (terpenos) e de muitos compostos fenólicos (CHIBANE et al., 2019; CARVALHO et al., 2018), com potencial de atravessar facilmente as membranas das células, interrompendo o arranjo dos diferentes ácidos graxos da bicamada fosfolipídica e moléculas de polissacarídeos, levando a quebra das ligações entre as camadas de lipídios e proteínas e, conseqüentemente vazamento de componentes celulares e perda de íons, como potássio e cálcio, e outras organelas celulares podem ser afetadas resultante de um efeito cascata (ABOODY; MICKYMARAY, 2020; YANG; ZHANG, 2019; SWAMI et al., 2016).

Lira-De León et al. (2014) relatam o efeito de extratos orgânicos, fracionados em acetato de etila e metanol, de duas espécies de plantas *Adenophyllum aurantium* e *Tournefortia densiflora* avaliadas nas concentrações de 100 mg.mL⁻¹ e 70 mg.mL⁻¹, inibiram, *in vitro*, o crescimento de *Fusarium solani* em 56,17% e 68,64 % e de *Alternaria alternata* em 52,42% e 69,07%, agentes causais de doenças em tomate. Ngegba et al. (2018) relataram o efeito de extratos aquosos de três espécies de plantas *Azadirachta indica*, *Tithonia diversifolia* e *Chromolaena odorata* avaliadas nas concentrações de 100%, 80%, 60%, 40% e 20%, inibiram o crescimento dos fungos fitopatogênicos *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *Geotrichum candidum* e *Rhizopus stolonifer* em todas as concentrações do extrato aquoso testadas, com inibição variando de 15,5% a 92%, nas concentrações de 20% e 100%, respectivamente. Cruz et al. (2013) ao avaliarem o efeito do extrato aquoso de *Azadirachta indica* (nim) nas concentrações de 2% e 4% no controle da severidade da antracnose em banana (*Musa paradisiaca* L.), causada por *Colletotrichum musae*, verificaram que a severidade da doença foi de 55,3% e 40,03% para as concentrações de 2% e 4%, respectivamente, se comparada ao tratamento controle, com severidade de 75,13%. Yang e Jiang (2019), relatam que o uso de polifenol da árvore de chá (*Melaleuca alternifolia* L.) nas concentrações mínimas de 4 mg.mL⁻¹ inibiram o crescimento micelial e de 2 mg.mL⁻¹ a germinação de esporos, do fungo *Rhizopus stolonifer*, agente causal de podridão em nectarina e pêssego, e em estudos microscópicos sobre a morfologia do fungo observaram que as hifas mostraram inchaços irregulares, ramificação aumentada, entrelaçamento, enrugamento, colapso e quebra das hifas; nos esporos foram observados que as pontas dos tubos germinativos estavam inchadas, com esfoliação da camada superficial, quebra da parede celular e foi observado a separação do plasmalema da parede celular.

2.6 Extratos vegetais na indução de resistência

Os extratos vegetais além do efeito antifúngico e no controle da doenças em plantas hospedeiras, podem conter outros compostos com capacidade de ativar mecanismos de defesa nas plantas, como polissacarídeos (HÉLOIR et al., 2019), proteínas e lipídios ((LACHHAB et al., 2014), designadas de elicitores ou padrões moleculares associados a patógenos ou micróbios (PAMP ou MAMP, do inglês, *pathogen-associated molecular pattern* ou *microbe-associated molecular pattern*), que são percebidos por receptores de reconhecimento padrões, levando à regulação da imunidade da planta conhecida como imunidade desencadeada por MAMP (MTI, do inglês, *MAMP-triggered immunity*), que geralmente é caracterizado por eventos rápidos que ocorrem nos primeiros minutos a algumas horas (KRZYZANIAK et al., 2018; LACHHAB et al., 2014). A percepção desses elicitores desencadeia uma cascata de sinalização nas células das plantas hospedeiras levando ao fluxo de íons, despolarização das membranas celulares, produção de óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio (ERO), atuando como mensageiros secundários, podendo ativar a cascata de fosforilação de proteínas quinase MAPK, MKK e MKKK, (MAPK, MAPKK e MAPKKK, do inglês, *mitogen-activated protein kinase, kinase, kinase*) ativando a expressão de genes de defesa (BECKERS et al., 2009) e conseqüentemente a produção de proteínas relacionadas a patogênese (PR), enzimas hidrolíticas que degradam a parede celular fúngica (β -1,3-glucanases e quitinases) e fitoalexinas, que são compostos antimicrobianas; todo esse evento regulado pelos fitormônios ácido salicílico (SA), ácido jasmônico (JA) e etileno (KRZYZANIAK et al., 2018).

Draz et al. (2019) relatam que o uso preventivo de extratos vegetais de cinco espécies de plantas de folhas de hena (*Lowsonia inermis* L.), acalyfa (*Acalypha wilkesiana* Müll.Arg.), chinaberry (*Melia azedarach* L.) e lantana (*Lantana câmara* L.) e casca de fruta de romã (*Punica granatum* L.) foram avaliadas para o controle da ferrugem (*Puccinia triticina* Eriks.) da folha em trigo (*Triticum aestivum* L.) e, todos os extratos tiveram eficiência no controle da doença em 80%, 72%, 76%, 68% e 88%, e as análises bioquímicas revelaram que em todos os tratamentos avaliados houve aumento significativo no conteúdo de clorofila total (a + b), fenólicos totais e nas atividades das enzimas oxidativas peroxidase (POX) e polifenoloxidase (PPO), em relação ao tratamento controle que não recebeu os extratos vegetais.

Krzyzaniak et al. (2018), relatam que o uso de extrato purificado de plantas sobre suspensões de células de videira (*Vitis vinifera* L. cv. Gamay), ativam as respostas relacionadas a defesa, identificando-se a produção de H₂O₂, ativação da MAPK através da fosforilação e

produção de genes relacionadas a defesa, fenilalanina amônia-liase (PAL), estilbeno sintase (STS), quitinase 4c (PR3), lipoxigenase 9 (9-LOX), lipoxigenase 13 (13-LOX), proteína relacionada à patogênese, e a produção da fitoalexina resveratrol.

Peghaire et al. (2020), relatam que os extratos de folhas de bordo vermelho (*Acer rubrum*) extraídos em etanol-água ativaram a expressão de genes de defesa em folhas de tabaco, como a PR1, β -1,3-glucanase PR2, quitinase PR3 e osmotina PR5. COLPAS et al. (2009), relatam que extratos aquosos das folhas de *Ocimum gratissimum* nas concentrações de 10, 25, 40 e 50% induziram a produção de fitoalexinas, desoxianocianidinas, em cotilédones de soja e de 3-desoxianocianidinas em mesocótilos de sorgo.

2.7 Plantas medicinais com potencial antifúngico

2.7.1 *Croton cajucara*

O gênero *Croton Cajucara* Benth. é um arbusto que pertence à Ordem Euphorbiales e Família Euphorbiaceae, popularmente conhecida como “sacaca”, com distribuição na região Amazônica, o arbusto apresenta casca pulverulenta, as folhas são oval-lanceoladas e com posição alternas (AZEVEDO et al., 2013). Dois morfotipos de *C. cajucara* foram identificados conhecidos como vermelho e branca. A planta é utilizada amplamente na medicina tradicional através da ingestão oral da infusão ou cocção de suas folhas ou cascas, para tratamento de úlceras gástricas, distúrbios hepáticos, diabetes, febre, malária e no índice elevados de colesterol (NASCIMENTO et al., 2016, AZEVEDO et al., 2014), e algumas pesquisas relatam que possui propriedades antioxidantes (MACIEL et al., 2009) e efeito antileishmania (LIMA et al., 2015), antibacteriano e antifúngico (AZEVEDO et al., 2013; AZEVEDO et al., 2014).

Uma variedade de compostos com propriedades farmacológicas foram identificada a partir do óleo essencial extraído de folhas da sacaca, sendo o terpeno 7-hidroxicalameneno o composto maioritário representando 35,4% do óleo, seguido do linalol com 11,8% e outros compostos com presença minoritária, como germacreno D (4,2%), δ -cadineno (4,8%), β -cariofileno (2,4%), espatulenol (2,4%) entre outros (AZEVEDO et al., 2014). Da casca foram identificados alguns compostos terpênicos como a *trans*-dehidrocrotina (DCTN), *trans*-crotonina, *cis*-cajucarina B, cajucarina B e sacacarina, dois flavonóides, kaempferol 3,4', 7-trimetil éter e 3,7-dimetil éter (MACIEL et al., 2000), e polissacarídeos muito complexos a partir de folhas, contendo ramnogalacturonano tipo I, arabinano, arabinogalactano tipo I,

arabinogalactano tipo II, ramano, amido e manana, que tem propriedades no tratamento contra úlceras gástricas (NASCIMENTO et al., 2017).

Azevedo et al. (2013), relatam que o uso de óleo essencial de *C. cajucara* na concentração de $10 \mu\text{L.mL}^{-1}$ mostrou atividade antimicrobiana sob o crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Mycobacterium smegmatis*, com zona de inibição de 38, 10 e 24 mm, e dos fungos *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus ochraceus*, *Mucor circinelloides* e *Fusarium solani* em 12, 5, 6, 5, 15 e 3,5 mm, respectivamente.

2.7.2 *Piper marginatum*

A espécie *Piper marginatum* Jacq. pertence à Família Piperaceae, é um arbusto aromático, com pecíolo alado e folhas em forma de coração, que são as duas principais características que facilitam a sua identificação; a planta se encontra distribuída no Centro e Sul das Américas, e no Brasil é conhecida como caapeba; o extrato das folhas é utilizado para tratamento de doenças gastrointestinais, reumatismo e tumores, (BRÚ e GUZMAN, 2016), e em certas regiões do Brasil, como a Paraíba, é utilizada como aromatizante de alimentos e como antídoto para picada de cobra (CHAVES e SANTOS, 2002).

Pesquisas relatam que *P. marginatum* mostra potencial efeito contra fungos e bactérias fitopatogênicas causadores de várias doenças em plantas e que provocam perdas econômicas para os produtores agrícolas. Santos et al. (2011), avaliaram o efeito do óleo essencial de *P. marginatum* para o controle de *Fusarium oxysporum*, agente causal do mal de Panamá em bananas, e foi observado que o diâmetro do crescimento micelial desse fungo foi 22,5 mm menor do que o do tratamento controle (69,9 mm), mostrando efeito no controle do fungo.

Araújo et al. (2014) ao avaliaram o efeito do extrato metanólico de *P. marginatum* no crescimento micelial *in vitro* e no diâmetro da lesão da antracnose, causada por *C. scovillei*, em frutos de pimentão, observaram que a concentração de $1,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ocasionou inibição de 82,4% no crescimento micelial e de 81,2% no diâmetro da lesão nos frutos, quando comparado ao tratamento controle usando fungicida Micozeb, que inibiu o crescimento micelial em 69,5% e o diâmetro de lesão nos frutos em 62,5%.

Macêdo et al. (2018) avaliaram extratos etanólico de folhas de *P. marginatum* no crescimento micelial do fungo fitopatogênico *Colletotrichum musae*, agente causal da antracnose em bananas, nas concentrações de 10%, 20%, 30%, 40% e 50%, e verificaram que as concentrações de 40% e 50% inibiram o crescimento micelial do fungo em 10,9% e 20,2%,

respectivamente, e os metabólitos responsáveis da inibição foram identificados evidenciando-se a presença de taninos hidrolisáveis, fenilpropanóide, flavonoides e terpenóides.

2.7.3 *Curcuma longa*

A *Curcuma longa* Linn. é uma planta herbácea perene pertencente à Família Zingiberaceae, nativa do sul da Ásia tropical, mas cultivada extensivamente em todo o mundo; estas plantas crescem até um metro de altura apresentando folhas longas e oblongas de cerca de 60 cm de comprimento, rizomas tuberosos com casca áspera e segmentada, apresentando externamente cor marrom amarelado e cor interior laranja opaco ou marrom avermelhado, o rizoma mede 2,5 a 7,0 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro (BOTANICAL, 2021; CSBG, 2021). O rizoma em pó da *C. longa* é amplamente utilizado como especiaria para preparo de alimentos, proporcionando cor e contribuindo no sabor dos alimentos, devido à presença de suas oleorresinas e óleo essencial (NELSON *et al.*, 2017), e como conservante na indústria de alimentos (GUL e BAKHT, 2015). A cúrcuma é amplamente utilizada na medicina tradicional chinesa e indiana, sendo aplicada em feridas recentes e hematomas, e contra irritantes para picadas de insetos, e no tratamento de diversas doenças como urológicas, hepatobiliares, anticancerígena gastrointestinais, doenças de pele, infecções e problemas ginecológicos (TIAN *et al.*, 2021; PAGANO *et al.*, 2018, MORAN *et al.*, 2016), e com potencial, antioxidante, antimicotoxigênica e antifúngica (AVANÇO *et al.*, 2017).

A *C. longa* é constituída principalmente por carboidratos (60% - 70%), água (6% - 13%), gordura (5% - 10%), proteína (6% - 8%), minerais (3% - 7%), fibra (2% - 7%), óleos voláteis (3% - 7%) e curcuminóides (1% - 6%) (NELSON *et al.*, 2017). Os curcuminóides são polifenóis não tóxicos que exercem ampla gama de atividade biológica e que estão presentes em três formas, a curcumina [(1E, 6E - 1,7 - bis (4 - hidróxi - 3 - metóxi-fenil) - 1,6 - heptadieno -3,5 - diona] que constitui aproximadamente 60% - 70%, demetoxicurcumina 20% - 27% e bisdemetoxicurcumina 10% - 15% (NELSON *et al.*, 2017).

Pesquisas relatam que a curcumina, o composto de maior importância entre os curcuminóides, altera as propriedades da bicamada lipídica de membranas celulares, e que muitas de suas atividades biológicas está estreitamente relacionada a desorganização da estrutura membranosa que pode ter efeito negativo e levar a mudanças na função de proteínas e enzimas de membranas (LARA *et al.*, 2010; BARRY *et al.*, 2009). Ingólfsson *et al.* (2014) avaliaram as propriedades de cinco metabólitos fenólicos, curcumina (cúrcuma), capsaicina

(pimenta), Epigallocatequina-galato (EGCG; chá verde), genisteína (soja) e resveratrol (uvas), e observaram que todos os compostos alteraram a estrutura e propriedades da bicamada lipídica e a função de diversas proteínas de membrana foram afetadas, ao observar que os compostos estavam localizados na interface da bicamada membranosa, devido aos elevados coeficientes de partição octanol/água variando de 3,1 a 4,1, que significa que os compostos fenólicos interagem facilmente com moléculas lipídicas, podendo-se adsorver facilmente na bicamada lipídica e alterar a suas propriedades.

Varshney et al. (2013) observaram que a curcumina pode aumentar em 56 vezes a permeabilidade da membrana de lipossomos. Os mesmos efeitos são relatados para os óleos essenciais sobre os fungos fitopatogênicos, inibindo o crescimento micelial, germinação dos esporos e promovendo deformações na estrutura morfológica na parede e membrana celular e alterações fisiológica (HU et al, 2015; HU et al., 2017), e alguns de seus compostos foram identificados, sendo os compostos maioritários ar-Turmerona (33.2% - 12,9%), α -Turmerona (23.5% - 42,6%), β -Turmerona (22.7% - 16%) (AVANÇO et al., 2017; FERREIRA et al., 2013)

Pesquisas relatam que o uso de extratos e óleos essenciais tem controlado alguns fitopatógenos que causam doenças em plantas, inibindo o seu crescimento e desenvolvimento em condições *in vitro* e *in vivo*, e muitas das propriedades descritas da *C. longa* poderiam influenciar na inibição do desenvolvimento dos fitopatógenos. Hu et al. (2017) relatam que o óleo essencial de *C. longa* nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 8 $\mu\text{L.mL}^{-1}$ inibiu o crescimento micelial de *Aspergillus flavus*, agente causal de deterioração de cereais pós-colheita, em 63,31%, 71,15%, 78,99%, 91,03% e 93,41%, respectivamente e, a germinação de conídios variando de 17,01% a 85,47%; observações em microscopia de varredura mostraram que os conídios tiveram a morfologia das paredes rugosas, se comparadas às paredes lisas dos conídios não tratados com óleo, e que a síntese do conteúdo de ergosterol, lipídio estrutural da membrana celular, foi inibida em 14,80%, 30,07%, 38,95%, 53,64% e 80,27%, respectivamente, além de interromper as funções da atividade da ATPase mitocondriais.

Alsahli et al. (2018), relatam que o tratamento de sementes de girassol com extrato de *C. longa* na concentração de 10% reduziu a severidade da podridão radicular, causada por *F. solani* (Mart.) Sac., em 16,8% e 23,1%, na segunda e quarta semana de avaliação, se comparado ao tratamento que foi inoculado somente com patógeno, que apresentou severidade de 40,3% e 55,4%, além disso, o extratos ativou o sistema de defesa do girassol, aumentando o conteúdo de fenólicos, atividade de enzimas antioxidantes (peroxidase e fenilalanina amônia liase), sendo

identificados três genes que codificam proteínas relacionadas a defesa (glutathione S-transferase 6, ascorbato peroxidase e defensina).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos geral

Avaliar, *in vitro*, extratos aquosos e fracionados de *Curcuma longa*, *Croton cajucara* e *Piper marginatum* no controle da antracnose da pimenta-de-pimenta de cheiro.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o potencial do extrato aquoso de *Curcuma longa*, *Croton cajucara* e *Piper marginatum* sobre o crescimento micelial e esporulação de *Colletotrichum* sp. *in vitro*, e na redução da incidência da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro;
- Avaliar o potencial de extratos fracionado de três espécies vegetais, *Curcuma longa*, *Croton cajucara* e *Piper marginatum* sobre o crescimento micelial, esporulação e germinação dos conídios de *Colletotrichum* sp. *in vitro*, e na redução da incidência da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro;
- Identificar os compostos metabólicos presente no extrato fracionado com potencial para o controle de *Colletotrichum* sp.

4 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ABOODY, M.S.A.; MICKYMARAY, S. Anti-Fungal efficacy and mechanisms of flavonoids. *Antibiotics*, v.9, n.2, p. 1-42, 2020.
- ABUBAKAR, A.R.; HAQUE, M. Preparation of medicinal plants: Basic extraction and fractionation procedures for experimental purposes. **Journal of Pharmacy Bioallied Sciences**, v.12, n.1, p. 1-10, 2020.
- ALI, A.; BORDOH, P.K.; SINGH, A.; SIDDIQUI, Y.; DROBY, S. Post-harvest development of anthracnose in pepper (*Capsicum* spp): Etiology and management strategies. **Crop Protection** v.90, p. 132-141, 2016.
- ALMEIDA, C.A.; AZEVEDO, M.M.B.; CHAVES, F.C.M.; OLIVEIRA, M.R.; RODRIGUES, I.A.; BIZZO, H.R.; GAMA, P.E.; ALVIANO, D.S.; ALVIANO, C.S. *Piper* essential oils inhibit *Rhizopus oryzae* growth, biofilm formation, and rhizopuspepsin activity. **Canadian journal of infectious diseases and medical microbiology**, v.2018, p. 1-7.
- ALMEIDA, L.B.; MATOS, K.S.; ASSIS, L.A.G.; HANADA, R.E. First report of anthracnose of *Capsicum chinense* in Brazil Caused by *Colletotrichum brevisporum*. **Plant Disease**, v. 101, n. 6, p. 1035, 2017.
- ALSAHLI, A.A.; ALARAIKH, I.A.; RASHAD, Y.M RAZIK, E.S.A. Extract from *Curcuma longa* L. triggers the sunflower immune system and induces defence-related genes against *Fusarium* root rot. **Phytopathologia Mediterranea**, v.57, n.1, p. 26-36, 2018.
- ALTEMIMI, A.; LAKHSSASSI, N.; BAHARLOUEI, A.; WATSON, D.G.; LIGHTFOOT, D.A. Phytochemicals: extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. **Plants**, v.6, n.42, p. 1-23, 2017.
- ARANHA, B.C.; HOFFMANN, J.F.; BARBIERI, R.L.; ROMBALDIA, C.V CHAVES, F.C. Untargeted metabolomic analysis of capsicum spp. by GC-MS. **Phytochem Analysis**, p.1-7,2017.
- ARAÚJO, C.M.M.; SILVA FILHO, D.F.; TICONA-BENAVENTE, C.A.; BATISTA, M.R.A. Morphoagronomic characteristics display high genetic diversity in Murupi chili pepper landraces. **Horticultura Brasileira**, v.36, p. 083-087. 2018.
- ARAÚJO, E.R.; HARAND, W.; LIMA, I.C.; DIAS, F.C.R.; SANTANA, A.A.D.; CARVALHO, R.R.C. DELSON LARANJEIRA, D. Extratos de *Piper marginatum* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum scovillei* em pimentão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.49, n.2, p. 88-94, 2014.
- AVANÇO, G.B.; FERREIRA, F.D.; BOMFIM, N.S.; SANTOS, P.A.S.R.; PERALTA, R.M.; BRUGNARI, T.; MALLMANN, C.A.; ABREU FILHO, B.A.; MIKCHA, J.M.G.; MACHINSKI JUNIOR, M. *Curcuma longa* L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. **Food Control**, v.73, p. 806-813, 2017.
- AZEVEDO, M.M.B.; CHAVES, F.C.M.; ALMEIDA, C.A.; BIZZO, H.R.; DUARTE, R.S.; TAKAKI, G.M.C.; ALVIANO, C.S.; ALVIANO, D.N. Antioxidant and antimicrobial activities

of 7-Hydroxycalamenene-rich essential oils from *Croton cajucara* Benth. **Molecules**, v.18, p. 1128-1137, 2013.

AZEVEDO, M.M.B.; ALMEIDA, C.A.; CHAVES, F.C.M.; TAKAKI, G.M.C.; ROZENTAL, S.; BIZZO, H.R.; ALVIANO, C.S.; ALVIANO, D.S. Effects of 7-Hydroxycalamenene isolated from *Croton cajucara* essential oil on growth, lipid content and ultrastructural aspects of *Rhizopus oryzae*. **Plant medicinal**, v.80, p. 550-556, 2014.

BARRY, J.; FRITZ, M.; BRENDER, J.R.; SMITH, P.E.S.; LEE, D.K.; RAMAMOORTHY, A. Determining the effects of lipophilic drugs on membrane structure by solid-state NMR spectroscopy - the case of the antioxidant curcumin. **J Am Chem Soc**, v.131, n.12, p. 4490-4498, 2009.

BECKERS, G.J.M.; JASKIEWICZ, M.; LIU, Y.; UNDERWOOD, W.R.; HE, S.Y.; ZHANG, S.; CONRATH, U. 2009. Mitogen-activated protein kinases 3 and 6 are required for full priming of stress responses in *Arabidopsis thaliana*. **American Society of Plant Biologists**, 21: 944-953, 2009.

BOSLAND, P.W.; COON, D.; REEVES, G. 'Trinidad Moruga Scorpion' Pepper is the world's hottest measured chile pepper at more than two million scoville heat units. **Hirtechnology**, v.22, n.4, p. 534-538.

BOTANICAL. Disponível em: <http://www.botanical.com/botanical/mgmh/t/turmer30.html>. acesso em 30 maio 2021.

BRÚ, J.; GUZMAN, J.D. Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of *Piper marginatum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.26, p. 767-779, 2016.

CANNON, P.F.; DAMM, U.; JOHNSTON, P.R.; WEIR, B.S. *Colletotrichum* – current status and future directions. **Studies in Mycology**, 73, p. 181-213, 2012.

CARDOSO, A.A.S.; SANTOS, J.Z.L.; TUCCI, C.A.F.; BARBOSA, T.M.B. Acúmulo de nutrientes e crescimento da pimenta-de-cheiro em função de doses de calcário. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 8, n. 2, p. 165-174, 2014.

CARRIZO-GARCIA, C.; BARFUSS, M.H.J.; SEHR, E.M.; BARBOZA, G.E.; SAMUEL, R.; MOSCONE, E.A.; FRIEDRICH EHRENDORFER, F. Phylogenetic relationships, diversification and expansion of chili peppers (*Capsicum*, Solanaceae). **Annals of Botany**, v.118, p. 35-51, 2016.

CARVALHO, A.V.; MACIEL, R.A.; BECKMAN, J.C.; POLTRONIERI, M.C. 2014. **Caracterização de Genótipos de Pimentas Capsicum spp. Durante a Maturação**. Belem: Embrapa Amazônia Oriental, 2014. 19 p. (Embrapa Amazônia Oriental. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 90).

CARVALHO, R.S.; CAROLLO, C.A.; MAGALHÃES, J.C.; PALUMBO, J.M.C.; BOARETTO, A.G.; SÁ, I.C.N.; FERRAZ, A.C.; LIMA, W.G. SIQUEIRA, J.M.; FERREIRA, J.M.S. Antibacterial and antifungal activities of phenolic compound-enriched ethyl acetate fraction from *Cochlospermum regium* (Mart. Et. Schr.) Pilgerroots: Mechanisms of action and synergism with tannin and gallic acid. **South African Journal of Botany**, v.114, p. 181-187, 2018.

CHAVES, A.A.C.; FURTADO, S.C. Análise físico-química da pimenta de cheiro mantida em temperatura ambiente. **Nutrição Brasil**, v.16, n.4, p. 194-203, 2017.

CHAVES, M.C.O.; SANTOS, B.V.O. Constituents from *Piper marginatum* fruits. **Phytochemical Communication**, v.73, p. 547-549, 2002.

CHEN, C.; LONG, L.; ZHANG, F.; CHEN, Q.; CHEN, C.; YU, X.; LIU, Q.; BAO, J.; LONG, Z. 2018. Antifungal activity, main active components and mechanism of *Curcuma longa* extract against *Fusarium graminearum*. **Plos One**, v.13, n.3, e0194284.

CHEN, S.; WANG, Y.; SCHNABEL, G.; PENG, C.A.; LAGISHETTY, S.Y.; SMITH, K.; LUO, C.; YUAN, H. Inherent resistance to 14a-Demethylation inhibitor fungicides in *Colletotrichum truncatum* is likely linked to CYP51A and/or CYP51B gene variants. **Phytopathology**, v.108, p. 1263-1275, 2018.

CHIBANE, L.B.; FORQUET, V.; LANTÉRI, P.; CLÉMENT, Y.; AKKARI, L.L.; OULAHA, N.; DEGRAEVE, P.; BORDES, C. Antibacterial properties of polyphenols: characterization and QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) Models. **Frontiers Microbiology**, v.10, n.829, p. 1-23, 2019.

COLPAS, F.T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; FERRARESE, L.M.; SCAPIM, C.A.; BONALDO, S.M. Induction of plant defense responses by *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) leaf extracts. **Summa Phytopathol, Botucatu**, v. 35, n. 3, p. 191-195, 2009.

COSTA, L.V.; BENTES J.L.S.; LOPES, M.T.G.; ALVES, S.R.M.; VIANA JÚNIOR, J.M. Caracterização de acessos de pimentas do Amazonas. **Horticultura Brasileira**, 33: 290-298, 2015. DOI:

CRUZ, M.E.S.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CLEMENTE, E.; ITAKO, A.T.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.J.S. 2013. Plant extracts for controlling the post-harvest anthracnose of banana fruit. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.15, n.4, p.727-733, 2013.

DAMM, U.; CANNON, P.F.; WOUDEBERG, J.H.C.; JOHNSTON, P.R.; WEIR, B.S.; TAN, Y.P.; SHIVAS, R.G.; CROUS, P.W. The *Colletotrichum boninense* species complex. **Studies in Mycology**, v.73, p. 1–36, 2012.

DAMM, U.; O'CONNELL, R.J.; GROENEWALD, J.Z.; CROUS, P.W. The *Colletotrichum destructivum* species complex – hemibiotrophic pathogens of forage and field crops. **Studies in Mycology**, v.79, p. 49-84, 2014.

DAMM, U.; SATO, T.; ALIZADEH, A.; GROENEWALD, J.Z.; CROUS, P.W. The *Colletotrichum dracaenophilum*, *C. magnum* and *C. orchidearum* species complexes. **Studies in Mycology**, v.92, p. 1-46, 2019.

DEAN, R.; VAN KAN, J.A.L, V.; PRETORIUS, Z.A.; KOSACK, K.E.H.; DI PIETRO, A.; SPANU, P.D.; JASON J.; RUDD, J.J.; MARTY DICKMAN, M.; REGINE KAHMANN, R.; ELLIS, J.; FOSTER, G.D. Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. **Molecular Plant Pathology**, v. 13, n. 4, p. 414–430, 2012.

DIAO, Y.Z.; FAN, J.R.; WANG, Z.W.; LIU, X.L. First Report of *Colletotrichum boninense* causing anthracnose on pepper in China. **Plant Disease**, v.97, n. 1, p. 138, 2013.

DI MARTILE, M.; GARZOLI, S.; RAGNO, R.; DEL BUFALO, D. 2020. Essential oils and their main chemical components: the past 20 years of preclinical studies in melanoma. **Cancers**, v.12, n.9, p. 1-45, 2020.

DOMENICO, C.I.; COUTINHO, J.P.; GODOY, H.T.; MELO, A.M.T. 2012. Caracterização agrônômica e pungência em pimenta de cheiro. **Horticultura Brasileira**, v.30, p. 466-472, 2012.

DORNELES, K.R., PAZDIORA, P.C., SILVA, F.J.A., MOCCELLIN, R., & FARIAS, C.R.J. Control of *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) using *Curcuma longa* (Linnaeus) extract and effect of this extract on rice seed physiology. **Revista Caatinga**, v.31, n.1, p. 99-105, 2018.

DOWLING, M.; PERES, N.; VILLANI, S.; SCHNABEL, G. Managing *Colletotrichum* on fruit crops: a “complex” challenge. **Plant Disease**, v.104, n.9, p. 2301-2316, 2020.

DRAZ, I.S.; ELKHWAGA, A.A.; ELZAAWELY, A.A.; EL-ZAHABY, H.M.; & ISMAIL, A.W.A. Application of plant extracts as inducers to challenge leaf rust of wheat. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v.29, n.6, p. 1-8, 2019.

SOUTH CHINA BOTANICAL GARDEN CHECKLIST. Disponível em: http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=610&taxon_id=200028370. Acesso em 30 maio 2021.

Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura, (2018) Disponível em: www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize. Acesso em: 20 de junho de 2020.

FERREIRA, F.D.; MOSSINI, S.A.G.; FERREIRA, F.M.D.; ARROTÉIA, C.C.; COSTA, C.L.; NAKAMURA, C.V.; MACHINSKI JR, M.M. The Inhibitory effects of *Curcuma longa* L. Essential Oil and curcumin on *Aspergillus flavus* link growth and morphology. **The Scientific World Journal**, p. 1-6, 2013.

FERREIRA, F.D.; KEMMELMEIER, C.; ARROTÉIA, C.C.; COSTA, C.L.; MALLMANN, C.A.; JANEIRO, V.; FERREIRA, F.M.D.; MOSSINI, S.A.G.; SILVA, E.L.; MACHINSKI JR, M. Inhibitory effect of the essential oil of *Curcuma longa* L. and curcumin on aflatoxin production by *Aspergillus flavus* Link. **Food Chemistry**, v.136, p. 789-793, 2013.

FORCELINI, B. B.; SEIJO, T. E.; AMIRI A.; PERES, N. A. Resistance in strawberry isolates of *Colletotrichum acutatum* from Florida to quinoneoutside inhibitor fungicides. **Plant Disease**, v.100, p. 2050-2056, 2016.

FUNGICIDE RESISTANCE ACTION COMMITTEE. Pathogen risk list, 2019 disponível em: <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/pathogen-risk/frac-pathogen-list-2019.pdf>. Acesso em 30 maio. 2021.

GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R.; BERNI, R.F. **A antracnose da pimeta de cheiro**. Manaus, AM: EMBRAPA, 2014. 4 p. (Comunicado técnico).

GOCI, E.; HALOCI, E.; DI STEFANO, A.; CHIAVAROLI, A.; ANGELINI, P.; MIHA, A.; CACCIATORE, I.; MARINELLI, L. Evaluation of *in vitro* capsaicin release and antimicrobial properties of topical pharmaceutical formulation. **Biomolecules**, v.11, n.3, p. 1-10, 2021.

GUL, P.; BAKHT, J. Antimicrobial activity of turmeric extract and its potential use in food industry. **Journal of Food Science and Technology**, v.52, n.4, p. 2272-2279, 2015.

GUILLEN, N.G.; TITO, R.; MENDOZA, N.G. Capsaicinoids and pungency in *Capsicum chinense* and *Capsicum baccatum* fruits. Pesquisa. **Agropecuária Tropical**, v. 48, n. 3, p. 237-244, 2018.

HAN, K.; JANG, S.; LEE, J.H.; LEE, D.G.; KWON, J.K.; KANG, B.C. A MYB transcription factor is a candidate to control pungency in *Capsicum annuum*. **Theoretical and Applied Genetics**, v.132, p. 1235-1246, 2019.

HANADA, R.E.; GASPAROTTO, L.; PERIRA, J.C.R.; ASSIS, L.A.G. Ocorrência de *Colletotrichum* sp. em pimenta de cheiro (*Capsicum chinense*) no Amazonas. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, p. 0795, 2011, suplemento. XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Bento Gonçalves RS.

HÉLOIR, M.C.; ADRIAN, M.; BRULÉ, D.; CLAVERIE, J.; CORDELIER, S.; DAIRE, X.; DOREY, S.; GAUTHIER, A.; GUILLIER, C.L.; NEGREL, J.; TRDÁ, L.; TROUVELOT, S.; VANDELLE, E.; POINSSOT, B. Recognition of elicitors in grapevine: from mamp and damp perception to induced resistance. **Frontiers in Plant Sciences**, v.10, p. 1-17, 2019.

HU, Y.; ZHANG, J.; KONG, W.; ZHAO, G.; YANG, M. Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. **Food Chemistry**, v.220, p. 1-10, 2017.

HU, Y.; LUO, J.; KONG, W.; ZHANG, J.; LOGRIECO, A.F.; WANG, X.; YANG, M. Uncovering the antifungal components from turmeric (*Curcuma longa* L.) essential oil as *Aspergillus flavus* fumigants by partial least squares. **RSC Advances**, v.5, p. 41967-41976, 2015.

INGÓLFSSON, H.I.; THAKUR, P.; HEROLD, K.F.; HOBART, E.A.; RAMSEY, N.B.; PERIOLE, X.; JONG, D.H.; ZWAMA, M.; YILMAZ, D.; HALL, K.; MARETZKY, T.; HEMMINGS, H.C.; BLOBEL, C.; MARRINK, S.J.; KOÇER, A.; SACK, J.T.; ANDERSEN, O.S. Phytochemicals perturb membranes and promiscuously alter protein function. **ACS Chemical Biology**, v.9, n.8, p. 1788-1798, 2014.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo Agropecuário, 2017. Disponível em: Acesso em: 03 mar. 2021.

Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas (2019). disponível em: <http://www.idam.am.gov.br/wp-content/uploads/2020/07/RAT-Produ%C3%A7%C3%A3o-Vegetal-4%C2%BA-Trim-2019.pdf>. Acesso em: 03 mar. 2021

JAYAWARDENA, R.S.; HYDE, K.D.; DAMM, U.; CAI, L.; LIU, M.; LI, X.H.; ZHANG, W.; ZHAO, W.S.; YAN, J.Y. Notes on currently accepted species of *Colletotrichum*. **Mycosphere**, v.7, n.8, p. 1192-1260, 2016.

- PAKDEEVARAPORN, P.; WASEE, S.; TAYLOR, P. W. J.; MONGKOLPORN, O. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum*. **Plant Breeding**, v.124, p. 206-208, 2005.
- KATOCH, A.; SHARMA, P.; PADDER, B.A. Population structure of *Colletotrichum truncatum* in Himachal Pradesh and identification of broad-spectrum resistant sources in *Capsicum*. **Agricultural Research**, v. 6, n. 3, p. 296-303, 2017.
- KHODADADI, F.; GONZÁLEZ, J.B.; MARTIN, P.L.; GIROUX, E.; BILODEAU, G.J.; PETER, K.A.; DOYLE, V.P.; ACÍMOVIĆ, S.G. Identification and characterization of *Colletotrichum* species causing apple bitter rot in New York and description of *C. noveboracense* sp. nov. **Scientific Reports**, v.10, p. 1-16, 2020.
- KRISHNATREYYA, H.; HAZARIKA, H.; SAHA, A.; CHATTOPADHYA, P. Fundamental pharmacological expressions on ocular exposure to capsaicin, the principal constituent in pepper sprays. **Scientific Reports**, v.8, n.12153, p. 1-17, 2018.
- KRZYZANIAK, Y.; TROUVELOT, S.; NEGREL, J.; CLUZET, S.; VALLS, J.; RICHARD, T.; BOUGAUD, A.; JACQUENS, L.; KLINGUER, A.; CHILTZ, A.; ADRIAN, M.; HÉLOIR, M.C. A plant extract acts both as a resistance inducer and an oomycide against grapevine downy mildew. **Frontiers in Plant Sciences**, v.9, p. 1-24, 2018.
- LACHHAB, N.; SANZANI, S.M.; ADRIAN, M.; CHILTZ, A.; BALACEY, S.; BOSELLI, M.; IPPOLITO, A.; POINSSOT, B. Soybean and casein hydrolysates induce grapevine immune responses and resistance against *Plasmopara viticola*. **Frontiers in Plant Sciences**. v.5, n.76, p. 1-10, 2014.
- LARA, A.P.; AUSILI, A.; ARANDA, F.J.; GODOS, A.; TORRECILLAS, A.; GARCÍA, S.C.; FERNÁNDEZ, J.C.G. Curcumin disorders 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholine membranes and favors the formation of nonlamellar structures by 1,2-dielaidoyl-sn-glycero-3-phosphoethanolamine. *The Journal of Physical Chemistry*, v.114, p. 9778-9786, 2010.
- LEITE, T.R.; SILVA, M.A.P.; SANTOS, A.C.B.; COUTINHO, H.D.M.; DUARTE, A.E.; COSTA, J.G.M. Antimicrobial, modulatory and chemical analysis of the oil of *Croton limae*. **Pharmaceutical Biology**, v.55, n.1, p. 2015-2019, 2017.
- LEZOUL, N.E.H.; BELKADI, M.; HABIBI, F.; GUILLÉN, F. 2020. Extraction Processes with several solvents on total bioactive compounds in different organs of three medicinal plants. **Molecules**, v.25 n.20, p. 2-15.
- LIMA, G.S.; CASTRO-PINTO, D.B.; MACHADO, G.C.; MACIEL, M.A.M.; ECHEVARRIA, A. Antileishmanial activity and trypanothione reductase effects of terpenes from the Amazonian species *Croton cajucara* Benth (Euphorbiaceae). **Phytomedicine**, v.22, n.12, p. 1133-1137, 2015.
- LIRA-DE LEÓN, K.I.; MARES, M.V.R.; LÓPEZ, V.S.; LEPE, M.R.; CORONADO, R.S.; SÁNCHEZ, N.F.S.; BLANCO, R.V.; CARLOS, B.H. 2014. Effect of crude plant extracts from some Oaxacan flora on two deleterious fungal phytopathogens and extract compatibility with a biofertilizer strain. **Frontiers in Microbiology**, v.5, n.383, p. 1-10.
- LIU, F.; TANG, G.; ZHENG, X.; LI, Y.; SOL, X.; QI, X.; ZHOU, Y.; XU, J.; CHEN, H.; CHANG, X.; ZHANG, S.; GUOSHU GONG, G. Molecular and phenotypic

characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in peppers from Sichuan Province, China. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-17, 2016.

MACÊDO, C.G.; SOUSA, B.C.M.; FRAGA, S.S.; LOURIDO, K.A.; LUSTOSA, D.C.; SILVA, E.O.; CASTRO, K.C.F. Fitoquímica e atividade antifúngica do extrato de folhas de *Piper marginatum* no controle de fitopatógenos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v.9, n.6, p.70-77, 2018.

MACIEL, M. A. M.; ANJOS, G. C.; GOMES, F. E. S.; DANTAS, T. N. C.; PINTO, A. C.; KAISER, C. R.; MIRANDA, A. F.; ECHEVARRIA, A. Estudo fitoquímico de folhas de *Croton cajucara* Benth e determinação da sua propriedade antioxidante. **Revista Fitos**, v.4, n.2, p. 71-89, 2009.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; ARRUDA, A.C.; PAMPLONA, S.G.S.R.; VANDERLINDE, F.A.; LAPA, A.J.; ECHEVARRIA, A.; GRYNBERG, N.F.; CÔLUS, I.M.S.; FARIAS, R.A.F.; COSTA, A.M.L RAO, V.S.N. Ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology: a successful combination in the study of *Croton cajucara*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.70, p. 41-55, 2000.

MALDONADO, D.G.; CALLEROS, C.L.; MANDUJANO, E.A.; MIR, S.G.L.; YERENA, L.R.; E. CARTER, E.J.V. Antifungal activity of mango kernel polyphenols on mango fruit infected by anthracnose. **LWT - Food Science and Technology**, v.126, p. 1-9, 2020.

MARTINS, W.M.O.; CABRAL, E.S.; MARTINS, L.M.O. Caracterização fenotípica de acessos de *Capsicum chinense* Jacq da Mesoregião do Vale do Juruá, Acre. **Scientia Naturalis**, v. 2, n. 1, p. 84-95, 2020.

MAHASUK, P.; TAYLOR, P. W. J.; MONGKOLPORN, O. Identification of two new genes conferring resistance to *Colletotrichum acutatum* in *Capsicum baccatum*. **Phytopathology** v. 99, n. 9, p. 1100-1104, 2009.

MINISTÉRIO DE AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 20 de mar. 2021.

MONTRI, P., TAYLOR, P.W.J.; MONGKOLPORN, O. Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the causal agent of chili anthracnose, in Thailand. **Plant Disease**. 93:17-20, 2009.

MOSES, M.; UMAHARAN, P. Genetic structure and phylogenetic relationships of *Capsicum chinense*. **Journal of the America Society for horticultural Science**, v. 137, n. 4, p. 250-262, 2012.

MOSES, M.; UMAHARAN, P.; DAYANANDAN, S. Microsatellite based analysis of the genetic structure and diversity of *Capsicum chinense* in the Neotropics. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 61, n. 4, p. 741-755, 2014.

MORAN, M.P.; FERNANDEZ, J.M.; TORTOSA, C.R.; TORTOSA, M.C.R. Curcumin and Health. **Molecules**, v.21, n.264, p. 1-22, 2016.

NASCIMENTO, A.M.; FERREIRA, D.M.; SOUZA, E.F.J.; SOUZA, L.M.; SASSAKI, G.L.; IACOMINI, M.; WERNER, M.F.P.; CIPRIANI, T.R. Gastroprotective effect and chemical

characterization of a polysaccharide fraction from leaves of *Croton cajucara*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.95, p. 153-159, 2017.

NEITZKE, R.S.; BARBIERI, R.L.; VASCONCELOS, C.S.; FISCHER, S.Z.; VILELLA, J.C.B.; CASTRO, C.M. 2014. **Caracterização Morfológica e Estimativa da Distância Genética de Acessos de Pimenta do Banco Ativo de Germoplasma de Capsicum**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2014. 40 p. (Embrapa Clima Temperado. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 178).

NELSON, K.M.; DAHLIN, J.L.; BISSON, J.; GRAHAM, J.; PAULI, G.F.; WALTERS, M.A. The Essential medicinal chemistry of curcumin. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.60, n.5, p. 1620-1637, 2017.

NGEGBA, P. M.; KANNEH, S. M.; BAYON, M. S.; NDOKO, E. J. MUSA, P. D. 2018. Fungicidal effect of three plants extracts in control of four phytopathogenic fungi of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) fruit rot. **International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology** v.3, n.1, p. 112-117.

OLIVEIRA, LS; ALVES SRM; LOPES R; COSTA LV; ROCHA MQ. Produtividade e qualidade de genótipos de pimenta de cheiro em Manaus-AM. **Horticultura Brasileira**, v.29, p. 3393-3401, 2011

OLIVEIRA, C.V.S.; K.S. MATOS, K.S.; D.M.C. DE ALBUQUERQUE, D.M.C.; R.E. HANADA, R.E.; DA SILVA, G.F. Identification of *Colletotrichum isolates* from *Capsicum chinense* in Amazon. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, p. 2-10, 2017.

PAGANO, E.; ROMANO, B.; IZZO, A.A.; BORRELLI, F. The clinical efficacy of curcumin-containing nutraceuticals: An overview of systematic reviews. **Pharmacological Research** v.134, p. 79-91, 2018.

PAKDEEVARAPORN, P.; WASEE, S.; TAYLOR, P. W. J.; MONGKOLPORN, O. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum*. **Plant Breeding**, v.124, n.2, p. 206-208. 2005

PINHEIRO, J.B.; REIFSCHNEIDER, F.J.B.; PEREIRA, R.B.; MOITA, A.W. Reação de genótipos de *Capsicum* ao nematoide-das-galhas. **Horticultura Brasileira**, 32: 371-375, 2014.

PICKERSGILL, B. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. **Euphytica**, 96: p.129-133. 1997.

RAUTENBACH, M.; TROSKIE, A.M.; VOSLOO, J.A. Antifungal peptides: To be or not to be membrane active. **Biochimie**, v.130, p. 132-145, 2016.

RANATHUNGE, N.P.; MONGKOLPORN, O.; FORD, R.; TAYLOR, P.W.J. *Colletotrichum truncatum* Pathosystem on *Capsicum* spp: infection, colonization and defence mechanisms. **Australasian Plant Pathology**. v. 41, p. 463-473, 2012.

REDDY, M.S.; RAMAPANDU, S.; RAO, A.A. Development of resistance in *Gloeosporium ampelophagum* and *Colletotrichum capsici* to fungicides. **Proceedings Indian Academic Science**, v.90, n.6, p. 535-539, 1981.

- RODRÍGUEZ, M.L.A.; ALEJO, N.O. Biochemistry and molecular biology of capsaicinoid biosynthesis: recent advances and perspectives. **Plant Cell Reports**, v.38, p.1017-1030, 2019.
- ROSSATO, M; SANTIAGO, T.R.; LOPES, C.A. 2018. Reaction of *Capsicum* peppers commercialized in the Federal District to bacterial wilt. **Horticultura Brasileira**, v.36, p. 173-177, 2018.
- SAINI, T.J.; GUPTA, S.G.; ANANDALAKSHMI, R. Detection of chilli anthracnose caused by *Colletotrichum cliviae* in India. **Australasian Plant Disease Notes**, v. 12, n. 33, p. 1-4, 2017.
- SALIH, E.Y.A.; TIITTO, R.J.; LUUKKANEN, O.; SIPI, M. FAHMI, M.K.M.; FYHRQUIST, P.J. Potential Anti-Tuberculosis activity of the extracts and their active components of *Anogeissus leiocarpa* (DC.) guill. and perr. with special emphasis on polyphenols. **Antibiotics**, v.9, n.364, p. 2-25, 2020.
- SANTOS, M.R.A.; LIMA, R.A.; FERNANDES, C.F.; SILVA, A.G.; FACUNDO, V.A. (2011). Antifungal activity of *Piper marginatum* L. (Piperaceae) essential oil on *in vitro* *Fusarium oxysporum* (schlecht). **Revista Saúde e Pesquisa**, v.4, n.1, p. 9-14, 2011.
- SASIDHARAN, S.; CHEN, Y.; SARAVANAN, D.; SUNDRAM, K.M.; LATHA, L.Y. Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. **African Journal Traditional Complementary Alternative Medicines**, v.8, n.1, p. 1-10, 2011.
- SAXENA, A.; RAGHUWANSHI, R.; GUPTA, V.K.; SINGH, H.B. Chilli anthracnose: the epidemiology and management. **Frontiers in Microbiology**, v.7, n.1527, p. 1-18, 2016.
- SHARMA, P.N.; KATOCH, A.; SHARMA, P.; SHARMA, S.K.; SHARMA, O.P. First report on association of *Colletotrichum coccodes* with chili anthracnose in India. **Plant Disease**, v. 95, n. 12, p. 1584, 2011.
- SHIN, H.J.; XU, T.; ZHANG, C.L.; CHENG, Z.J. The comparative study of capsicum anthracnose pathogens from Korea with that of China. **Journal of Zhejiang University**, v. 26, p. 629–634, 2000.
- SILVA, A.M.; BENTES, J.L.S.; BEZERRA, E.J.S.; ANDRADE, M.C. Diversidade morfológica, genética e patogenicidade de *Colletotrichum* spp. associados à pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.). **Revista Agrária Acadêmica**, v.1, n.4, p. 39-51, 2018.
- SILVA, L.L.; MORENO, H.L.A.; CORREI, H.L.N.; SANTANA, M.F.; QUEIROZ, M.V. *Colletotrichum*: species complexes, lifestyle, and peculiarities of some sources of genetic variability. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 104:1891–1904, 2020
- SILVA, J.R.A.; CHAVES, T.P.; SILVA, A.R.G.; BARBOSA, L.F.; COSTA, J.F.O.; RAMOS-SOBRINHO, R.; TEIXEIRA, R.R.O.; SILVA, S.J.C.; LIMA, G.S.A.; ASSUNÇÃO, I.P. Molecular and morpho-cultural characterization of *Colletotricum* spp. associated with anthracnose on *Capsicum* spp. in northeastern, **Brazil. Tropical Plant pathology**, v. 42, p. 315-319, 2017.
- SUWOR, P.; THUMMABENJENJAPANE, P.; SANITCHON, J.; KUMAR, S.; TECHAWONGSTIEN, S. Phenotypic and genotypic responses of chili (*Capsicum annuum* L.)

progressive lines with different resistant genes against anthracnose pathogen (*Colletotrichum* spp.). **European Journal of Plant Pathology**, v.143, p. 725-736, 2015.

SWAMY, M.K.; AKHTAR, M.S.; SINNIAH, U.R. Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: an updated review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, p. 1-21, 2016.

SWAMY, M. K.; SINNIAH, U. R.; AKHTAR, M. S. “*In vitro* pharmacological activities and GC-ms analysis of different solvent extracts of *Lantana camara* leaves collected from tropical region of Malaysia,” evidence-based complementary and alternative. **Medicine**, p. 1-10, 2015.

TANAKA, Y.; NAKASHIMA, F.; KIRII, E.; GOTO, T.; YOSHIDA, Y.; YASUBA, K.I. Difference in capsaicinoid biosynthesis gene expression in the pericarp reveals elevation of capsaicinoid contents in chili peppers (*Capsicum chinense*). **Plant Cell Reports**, v.36, p. 267-279, 2017.

THAN, P.P.; PRIHASTUTI, H.; PHOULIVONG, S.; TAYLOR, P.W.J.; HYDE, K.D. Chili anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 9, n. 10, p. 764-778, 2008.

TIAN, S.; LIAO, L.; ZHOU, Q.; HUANG, X.; ZHENG, P.; GUO, Y.; DENG, T.; TIAN, X. Curcumin inhibits the growth of liver cancer by impairing myeloid-derived suppressor cells in murine tumor tissues. **Oncology Letters**, v.21, n.286, p. 1-10, 2021.

VARSHNEY, G.K.; SAINI, R.K.; GUPTA, P.K.; DAS, K. Effect of Curcumin on the diffusion kinetics of a hemicyanine dye, lds-698, across a lipid bilayer probed by second harmonic spectroscopy. **ACS Publications**, v.29, p. 2912-2918, 2013.

WEIR, B.S.; JOHNSTON, P.R.; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, 73, p. 115-180, 2012.

XIA, H.; WANG, X.L.; ZHU, H.J.; GAO, B.D. First report of anthracnose caused by *Glomerella acutata* on chili pepper in China. **Plant Disease**, v. 95, n. 2, p. 219, 2011.

YANG, X.; JIANG, X. Antifungal activity and mechanism of tea polyphenols against *Rhizopus stolonifer*. **Biotechnology Letters**, v.37, p. 1463-1472, 2015.

YANG, Y.; ZHANG, T. Antimicrobial Activities of Tea Polyphenol on Phytopathogens: A Review. **Molecules**, v.24, n.816, p. 1-8, 2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
TROPICAL

Capítulo 1

**PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE *Colletotrichum* sp.
ASSOCIADO A PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense* Jacq.)**

MANAUS - AM

2021

**Produtos naturais no controle de *Colletotrichum* sp. associado a pimenta-de-cheiro
(*Capsicum chinense* Jacq.)**

**Natural products in the control of *Colletotrichum* sp. associated with sweet pepper
(*Capsicum chinense* Jacq.)**

Aceito para publicação na Revista Agrarian

Rosendo Galileo López Macedo,
Universidade Federal do Amazonas
E-mail: galileolopezagro@gmail.com
OrcID: <https://orcid.org/0000-0002-3341-8564>

Jânia Lília da Silva Bentes,
Universidade Federal do Amazonas
E-mail: jlbentes@ufam.edu.br
OrcID: <https://orcid.org/0000-0001-7302-5661>

Antônia Queiroz Lima Souza
Universidade Federal do Amazonas
E-mail: antoniaqlsouza@gmail.com
OrcID: <https://orcid.org/0000-0001-5602-8617>

Resumo: A pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) é uma hortaliça muito consumida no Estado do Amazonas, cultivada principalmente por pequenos produtores. A expansão da cultura é fortemente afetada pela ocorrência da antracnose, doença causada pelo fungo *Colletotrichum* sp., sendo o principal problema fitossanitário da cultura na região, podendo alcançar 100% de incidência. O controle é feito por meio de práticas culturais e uso de fungicidas. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do extrato aquoso de três espécies vegetais, *Curcuma longa*, *Croton cajucara* e *Piper marginatum* no desenvolvimento, *in vitro*, de *Colletotrichum* sp., e na redução da incidência da doença em frutos de pimenta-de-cheiro. Os extratos aquosos obtidos a frio e a quente de cada espécie vegetal foram avaliados sobre o crescimento micelial e produção de conídio do fitopatógeno, em meio de cultura BDA e, na redução da incidência da doença em frutos destacados, pulverizados com os extratos antes e após a inoculação com *Colletotrichum* sp. Não foi observado efeito dos extratos no crescimento micelial e na esporulação do fungo em meio de cultura. Em frutos destacados houve redução da incidência da doença, quando os extratos foram aplicados de forma preventiva, podendo ter potencial para uso como uma medida complementar para o manejo da doença.

Palavras-chave: Antracnose. Extrato vegetal. Manejo alternativo.

Abstract: The sweet pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) is a vegetable widely consumed in the State of Amazonas, cultivated mainly by small producers. The expansion of the culture is strongly affected by the occurrence of anthracnose, a disease caused by the fungi *Colletotrichum* sp., being the main phytosanitary problem of the crop in the region. The disease management is done by cultural practices and use of fungicides. The goal of this work was to evaluate the potential of aqueous extracts from three plant species, *Curcuma longa*, *Croton cajucara* and *Piper marginatum* on the *Colletotrichum* sp. development *in vitro* and on the reduction of anthracnose incidence on sweet pepper fruits. Cold and hot extract from each plant species were used to evaluate the mycelial development and conidia production on BDA culture media. The effect of the extracts on the disease incidence was evaluated on sweet pepper fruits, sprayed before and after inoculation with the phytopathogen. No effect was

observed on mycelial development and fungi sporulation on culture media. There was a reduction of disease incidence on fruits, when the extract was sprayed as preventive treatment, and it may have use as complementary measure for disease management.

Keywords: Anthracnose. Alternative management. Plant extract.

Data de recebimento: 23/02/2021

Data de aprovação: 22/03/2021

DOI: xxxxxxx

5 Introdução

As pimentas (*Capsicum* spp.) estão entre as principais hortaliças cultivadas no mundo, podendo ser consumidas *in natura* ou processadas em forma de páprica, pastas, desidratadas e, em conservas (Aguilar *et al.*, 2020). Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação, o maior produtor de pimenta do gênero *Capsicum* no mundo é a China, com produção de 12,656,804.92 t (FAO, 2019). No Brasil, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, a produção de pimentas foi de 46.702 t, sendo o estado do Pará o maior produtor com 18.048 t (IBGE, 2017).

No Amazonas, as pimentas de cheiro (*Capsicum chinense* Jacq. 1777) são amplamente cultivadas devido a seu sabor pungente e aroma agradável proporcionados pelos capsaicinóides (Sganzerla, Coutinho, Melo, & Godoy, 2014), e é fonte de renda para pequenos produtores possibilitando a continuidade da atividade agrícola e manutenção no campo evitando o êxodo rural (Berni & Cardoso, 2013). Segundo o último relatório da produção vegetal do Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas, a estimativa de área plantada de pimenta-de-cheiro foi 1.397,21 ha, com produção estimada de 6.546,08 t (IDAM, 2019).

O cultivo de pimenta-de-cheiro pode ser atacado por diversos microrganismos causadores de doenças como, nematoides, bactérias e fungos, sendo a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum* spp., a principal doença da cultura no Amazonas, podendo levar a 100% de perdas na produção (Hanada, Gasparotto, Perira, & Assis, 2011). A doença pode acometer todas as variedades comerciais existentes se não forem adotadas medidas de controle (Gasparotto, Pereira, & Berni, 2014). Os sintomas ocorrem em ramos e folhas, sendo os frutos as partes mais afetadas por lesões inicialmente pequenas e escuras, circulares e deprimidas, que progridem formando círculos concêntricos e pontos negros que correspondem aos acérvulos do fungo de onde surge uma massa alaranjada constituída pelos conídios do fitopatógeno (Hanada *et al.*, 2011).

Diversas espécies de *Colletotrichum* são relatadas causando antracnose em pimentas como: *C. truncatum*, *C. gloeosporioides*, *C. fructicola*, *C. siamense*, *C. brevisporum*, *C. scovillei*, *C. sichuanensis* (Liu *et al.*, 2016; Ranathunge, Mongkolporn, Ford, & Taylor, 2012), *C. acutatum* (Suwor, Thummabenjenjapane, Sanitchon, Kumar, & Techawongstien, 2015), *C. coccodes*, (Sharma, Katoch, & Sharma, 2011) *C. dematium* (Shin, Xu, Zhang, & Cheng, 2000), *C. boninense* (Diao *et al.*, 2013) e *C. cliviae* (Saini, Gupta, & Anandalakshmi, 2017). No Amazonas três espécies foram descritas afetando a pimenta-de-cheiro: *C. siamense*, *C. scovillei*, (Oliveira, Matos, Albuquerque, Hanada, & Silva, 2017) e *C. brevisporum* (Almeida, Matos, Assis, & Hanada, 2017).

Para o controle da doença são recomendadas práticas culturais como o uso de sementes certificadas, plantio menos adensado, eliminação de restos de cultura, rotação de cultura com espécie de planta não hospedeira do fungo (Ali, Bordoh, Singh, Siddiqui, & Droby, 2016) além do controle químico com produtos registrados no Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2021), uma vez que não existem cultivares resistentes disponíveis. O uso consecutivo de produtos com o mesmo mecanismo de ação aliado ao uso indiscriminado de fungicidas oferece risco a saúde e danos ao ambiente além da seleção de

variantes resistentes aos princípios ativos utilizados (Tyskiewicz *et al.*, 2019; Martinez, Gomez, Ramirez, Gil, & Durango, 2020).

Uma abordagem menos prejudicial para o controle de doenças em plantas de importância agrícola, é a adoção de extratos derivados de plantas que apresentam compostos quimicamente ativos contra fitopatógenos (Wang, Zhang, Sun, & Zhang, 2017). Estes compostos bioativos são derivados de metabólitos secundários produzidos pelas plantas como alcaloides, fenóis, flavonóides e terpenóides, (Sun, Wang, Han, Zhang, & Feng, 2017). Diversos compostos bioativos têm sido isolados por métodos fitoquímicos ou bioquímico e testados para observar o efeito dos extratos sob condições controladas *in vitro*, no desenvolvimento do patógeno, mostrando eficiência no controle, alterando o desenvolvimento patogênico totalmente ou em parte (Nazzaro, Fratianni, Coppola, & De Feo, 2017; Park *et al.*, 2017).

Em experimentos em casa de vegetação ou condições de campo, os extratos vegetais mostram eficiência na redução da severidade da doença, seja pela ação do composto diretamente sob o patógeno ou como elicitor estimulando resistência induzida na planta (Ali, Pheng, & Mustafa, 2015; Meng, Li, Bi, Zhu, & Ma, 2015), resultando na redução dos sintomas de doenças ou em um fenótipo de resistência, sem o uso de agrotóxicos.

No Brasil, existe uma diversidade de espécies vegetais com potencial de serem exploradas e utilizadas para o controle de fungos fitopatogênicos. As espécies de plantas como *Croton cajucara* Benth. *Piper marginatum* Jacq. e *Curcuma longa* Linn. são plantas exploradas na medicina tradicional, no tratamento de doenças em humanos. A espécie *C. cajucara* é um arbusto nativo da floresta Amazônica pertencente à família *Euphorbiaceae*, popularmente conhecida como sacaca, e é utilizada na medicina tradicional através da ingestão oral da infusão ou cocção de suas folhas ou cascas, para tratamento de úlceras gástricas, distúrbios hepáticos, diabetes, febre e malária (Nascimento *et al.*, 2017, Azevedo *et al.*, 2014). Suas propriedades medicinais estão relacionadas a presença de terpenos como linalol e 7-hidroxicalameneno. Esta espécie também tem demonstrado efeito antimicrobiano, como relatado por Azevedo *et al.* (2016) onde o uso de 7-hidroxicalameneno em concentrações de 39,06, a 78,12 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, inibiu o crescimento das leveduras *Candida albicans*, *C. dubliniensis* e *C. parapsilosis* causadoras de infecções na corrente sanguínea em seres humanos.

A planta *P. marginatum*. pertence à família Piperaceae, é um arbusto aromático com pecíolo alado e folhas em forma de coração, que são as duas principais características que facilitam a sua identificação. Encontra-se distribuída no Centro e Sul das Américas, e no Brasil é conhecida como pimenta de macaco; o extrato das folhas é utilizado para tratamento de doenças gastrointestinais, reumatismo e tumores, (Bru & Guzman, 2016). Esta espécie tem sido relatada como potencial agente de biocontrole de fungos e bactérias fitopatogênicas. Araújo *et al.* (2014), usando o extrato metanólico de *P. marginatum*, observou a inibição de 82,4% do crescimento micelial e 81,2% do diâmetro da lesão em frutos de pimentão causado pelo fitopatógeno *Colletotrichum scovillei*.

A espécie *C. longa*, pertence à família Zingiberaceae, é uma erva perene originária das regiões tropicais da Ásia. O rizoma é o órgão mais utilizado da planta dando cor e sabor aos alimentos, e na medicina tradicional da Ásia, para o tratamento de doenças gastrointestinais e hepáticas, doenças de pele, infecções e problemas ginecológicos (Pagano, Romano, Izzo, & Borrelli, 2018). As moléculas ativas mais abundantes da cúrcuma são os curcuminóides, compostos polifenólicos, que estão relacionados aos efeitos farmacológicos de interesse terapêutico. Dorneles *et al.* (2018) observaram que o extrato de *C. longa* inibiu 60% do crescimento micelial e 83,34% da esporulação do *Bipolaris oryzae* causador da mancha- parda em plantas de arroz.

Em função do potencial já demonstrado no controle de microrganismos por estas espécies vegetais, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de extratos de *C. cajucara*, *P. marginatum* e *C. longa* no controle, *in vitro*, de *Colletotrichum* sp. e na redução da incidência da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro.

6 Material e Métodos

6.1 Coleta do material vegetal

Para a obtenção dos extratos vegetais, amostras de folhas de *C. cajucara*, *P. marginatum* e de rizomas de *C. longa*, foram coletadas no período da manhã, no setor sul da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), coordenadas geográficas -3.101623 Sul e -59.976167 Oeste, em sacos de papel, etiquetadas e transportadas ao laboratório de Fitopatologia onde foram lavadas em água corrente, colocadas para secar em temperatura ambiente (± 26 °C) durante 24 h, seguida de secagem em estufa com ventilação forçada a 70 °C durante 48 h. Após a secagem o material foi triturado em moinho de quatro lâminas até a obtenção de um pó seco.

6.2 Obtenção dos extratos vegetais a frio e a quente

Para o preparo do extrato frio (EF), 50 g de cada material vegetal seco e triturado foi adicionado a 500 mL de água destilada esterilizada em erlenmeyer de 1 L, homogeneizado e deixado em repouso durante 48 h, em temperatura ambiente (± 26 °C). Para o preparo do extrato quente (EQ), 50 g de cada material vegetal nas mesmas condições citadas anteriormente, foi homogeneizado em água destilada esterilizada à temperatura de 70 °C, e deixado em repouso durante 2 h.

Após o período de repouso do EF e EQ, foi feita uma filtração em camada dupla de gaze, e uma segunda filtração em papel de filtro. Os extratos filtrados foram centrifugados em tubos Falcon de 50 mL a 5000 rpm durante 10 min e o sobrenadante foi submetido a esterilização por filtração em membrana Milipore® de 0,45 μ m de porosidade. Os EF e EQ obtidos foram armazenados em congelador a temperatura de -18 °C.

6.3 Obtenção do isolado de *Colletotrichum* sp.

O isolado de *Colletotrichum* sp. foi obtido a partir de frutos de pimenta-de-cheiro apresentando sintomas típicos da antracnose, coletados em uma propriedade rural produtora, localizada no km 24 da Rodovia BR 174 em Manaus-AM. Os frutos foram depositados em sacos de papel, etiquetados e transportados para o laboratório, onde foi realizado o isolamento indireto do fitopatógeno em placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) (KASVI). A identificação morfológica do fitopatógeno foi realizada pela observação de estruturas reprodutivas, em lâminas de microscopia contendo corante azul de algodão 1% em lactofenol, com auxílio de um microscópio ótico (Zeiss®) sob objetiva de 40X.

6.4 Efeito dos extratos vegetais sobre o crescimento micelial e produção de conídios de *Colletotrichum* sp.

Os efeitos dos EF e EQ de folhas de *C. cajucara*, *P. marginatum* e dos rizomas de *C. longa*, foram avaliados em dois experimentos separados, sendo um para o extrato frio (EF) e outro para extrato quente (EQ). Nestes foram quantificados o crescimento micelial e a produção de conídios do fungo em placas de Petri de 60 mm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA acrescido dos EF e EQ das espécies vegetal, nas concentrações de 10%, 20% e 30%. No centro de cada placa foi depositado um disco de meio de cultura de 5 mm de diâmetro contendo a colônia do fungo *Colletotrichum* sp. As placas foram mantidas em câmara de crescimento (Tecnal), em temperatura de 27 °C

A avaliação do crescimento micelial foi realizado pela tomada das medidas diametralmente opostas da colônia a cada 24 h, com auxílio de um paquímetro digital (Carbografite), até que a colônia de um dos tratamentos alcançasse a borda da placa. Após finalizada avaliação do crescimento micelial, as mesmas placas contendo as colônias do

fungo, foram usadas para a quantificação da produção de conídios, a partir de uma suspensão de esporos obtida de cada placa. A quantificação da esporulação foi feita com auxílio de um hemacitômetro e observado em objetiva de 40X em microscópio ótico (Zeiss).

O ensaio experimental foi em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com nove tratamentos, (três espécies vegetais e três concentrações de cada extrato vegetal), com cinco repetições, sendo cada unidade experimental uma placa de Petri. Como testemunha foram usadas placas contendo somente o meio de cultura BDA. Os dados da produção de conídios foram transformados a Log^{10} para análise de variância. Com os dados obtidos foi realizada a análise de variância (ANOVA), e com as médias foi realizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade no Software R Studio Versão 4.0.2 (RStudio, 2020).

6.5 Efeito dos extratos vegetais frio (EF) na incidência da antracnose em frutos destacados de pimenta-de cheiro (*Capsicum chinense*)

Foram realizados dois experimentos separadamente visando avaliar o efeito preventivo e curativo dos extratos aquosos das folhas de *C. cajucara* e *P. marginatum* do rizoma de *C. longa* na incidência da antracnose em frutos destacados de pimenta-de-cheiro.

Frutos sadios e sem danos visíveis foram obtidos em propriedades rurais produtoras localizados na comunidade Boa Esperança (Rodovia BR 174 km 120, Presidente Figueiredo-AM, Brasil). Os frutos foram lavados em água corrente e desinfestados em álcool 70% por 5 min., hipoclorito de sódio por 2 min. seguido de três lavagens em água destilada autoclavada a 1 ATM por 20 min. e secos em papel toalha autoclavado nas mesmas condições citadas anteriormente. Após a assepsia, foram depositados três frutos em caixas plásticas tipo Gerbox[®], previamente lavadas e desinfestadas com álcool 70% e em luz ultravioleta (UV) durante 20 min, e forradas com camada dupla de papel de filtro autoclavado e umedecido com 10 mL de água destilada autoclavada. Para avaliação do efeito preventivo, os extratos foram pulverizados sobre os frutos, 48 h. antes da inoculação do fitopatógeno. Para avaliar o efeito curativo, os frutos foram inicialmente inoculados com o fitopatógeno e 48 h. após a inoculação foram aplicados os extratos separadamente. A inoculação foi realizada pela aplicação por aspersão de uma suspensão de conídios de *Colletotrichum* sp. na concentração de 10^5 conídios.mL⁻¹, na superfície dos frutos. Após a aplicação dos tratamentos, os frutos foram mantidos em Gerbox[®] tampados, em temperatura ambiente (± 26 °C) durante seis dias. A avaliação foi feita pela quantificação da incidência da doença, uma vez que uma única infecção inviabiliza a comercialização do fruto, usando a fórmula: ID (%) = [(número de frutos doentes/número total de frutos avaliados) x 100] (Wheeler, 1969).

O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (extratos vegetais aquosos de três espécies) e quatro repetições, sendo a unidade experimental um Gerbox[®] contendo três frutos. Como testemunhas foram utilizados frutos pulverizados com água destilada autoclavada (controle -) e frutos inoculados com patógeno (controle +).

7 Resultados

Nos experimentos com os EF e EQ não houve diferença significativa do crescimento micelial e na produção dos conídios entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. (Tabela 1). As espécies de *C. cajucara*, *P. marginatum* e *Cur. longa* não tiveram efeito significativo sobre o desenvolvimento de *Colletotrichum* sp. quando os metabolitos das plantas foram extraídos com água nas duas condições experimentais.

Tabela 1. Efeito das diferentes concentrações do extrato frio (EF) e extrato quente (EQ), obtidos dos rizomas e folhas, de *Curcuma longa*, *Croton cajucara* e *Piper marginatum*, sobre o crescimento micelial e produção de conídios de *Colletotrichum* sp, *in vitro*.

Tratamentos	Concentração do extrato vegetal (%)	Diâmetro da colônia (mm)		Esporulação (Conidio.mL ⁻¹)	
		Extrato Frio	Extrato Quente	Extrato Frio	Extrato Quente
<i>C. cajucara</i>	10	41,8 abc	40,0 a	4,5 ab	4,8 a
<i>C. cajucara</i>	20	44,0 abc	37,0 a	4,9 ab	4,1 bc
<i>C. cajucara</i>	30	41,4 abc	38,0 a	4,6 ab	3,9 c
<i>P. marginatum</i>	10	44,6 abc	44,3 a	4,8 a	4,6 ab
<i>P. marginatum</i>	20	40,5 abc	42,8 a	4,4 ab	4,2 abc
<i>P. marginatum</i>	30	39,7 bc	38,0 a	4,6 ab	4,0 bc
<i>C. longa</i>	10	42,2 abc	41,7 a	3,9 b	4,1 abc
<i>C. longa</i>	20	39,7 bc	37,9 a	4,3 ab	3,2 c
<i>C. longa</i>	30	37,9 c	37,3 a	4,3 ab	4,1 bc
Controle	0	42,6 abc	43,8 a	4,3 ab	3,2 abc
C.V%		9,51	9,65	7,89	15,47

Medias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Nos frutos que receberam tratamento curativo com extratos a frio de *C. longa* e *P. marginatum* a incidência da doença foi de 100%, e para *C. cajucara* foi 83,3%. Os frutos que receberam tratamento preventivo com os extratos de *C. longa*, *P. marginatum* e *C. cajucara* a incidência foi de 0%, 33,3% e 41,7% inferior ao do controle positivo respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito curativo e preventivo dos extratos frios (EF) de *Curcuma longa*, *Croton cajucara* e *Piper marginatum* na incidência da antracnose em frutos destacados de pimenta-de-cheiro.

Tratamento	Incidência (%)	
	Curativo	Preventivo
Controle (-)	0	0
Controle (+)	100	100
<i>C. longa</i>	100	0
<i>P. marginatum</i>	100	33,3
<i>C. cajucara</i>	83,3	41,7
CV(%)		

8 Discussão

O efeito não significativo dos EF e EQ no desenvolvimento *in vitro* do fitopatógeno pode estar relacionado com o método de extração utilizado. É possível que a extração dos metabólitos secundários de *C. longa*, *C. cajucara* e *P. marginatum*, somente com água não seja a forma mais eficiente para liberar os compostos com atividade antimicrobiana presentes nessas plantas, e que possivelmente estes metabólitos não tenham afinidade por solventes polares como a água.

Pesquisas mostram que algumas plantas têm seus metabólitos antimicrobianos extraídos com solventes polares, como a água, resultando em efeitos inibitórios no desenvolvimento de microrganismos patogênicos, no entanto, outras apresentam atividade inibitória dependente do solvente apolares ou de média polaridade utilizados na obtenção dos extratos e da concentração testada (Mohsan, Ali, Shahbaz, Saeed, & Burhan, 2017; Ezeonu *et al.*, 2019). Métodos como destilação a vapor ou extração com solventes orgânicos são

muito utilizados para extração de metabolitos ativos (Abidin, Hayyan, Hayyan, & Jayakumar, 2017; Favareto *et al.*, 2019), e que mostram respostas promissoras inibindo o desenvolvimento de fitopatógenos.

Trabalhos como os de Chen *et al.* (2018) relatam que o uso de etanol como solvente orgânico para extração dos metabolitos secundários de *C. longa*, inibiu o desenvolvimento micelial dos fungos *Fusarium graminearum* e *Colletotrichum. higginsianum* em 63,80% e 34,50% respectivamente utilizando a concentração de 0,5 mg.mL⁻¹. O mesmo efeito inibitório foi observado por Akter, Islam, Takara, Hossain, & Sano (2019) em *F. solani* inibindo o crescimento micelial em 80% na concentração de 128 µg.mL⁻¹.

A avaliação dos extratos de *C. cajucara*, *P. marginatum* e *Cur. longa* usando diferentes métodos e solventes orgânicos para a extração é necessária para verificar o efeito destes extratos no desenvolvimento do fitopatógeno *Colletotrichum* sp. agente causal da antracnose em pimenta-de-cheiro. Vale ressaltar que extratos aquosos e metanólicos, que são considerados polares, podem ter uma mistura maior de moléculas das plantas, devido a alta complexidade de metabólitos secundários produzidos por estas que outros extratos de média e baixa polaridade. Neste sentido novas estratégias de extração devem ser avaliadas.

O efeito curativo dos EF não teve influência na redução da incidência da doença em frutos de pimenta-de-cheiro, conforme observado no experimento em meio de cultura (Tabela 1). Quando os EF foram aplicados de forma preventiva houve redução da incidência da doença para todos os extratos testados. É possível que o uso preventivo dos extratos pode ter induzido resposta de defesa nos frutos ou inibido a germinação dos conídios.

Metabólitos naturais presentes nos extratos vegetais podem estimular a expressão de respostas de defesa nas plantas (Conrath, 2011; Thomas & Hoorn, 2018), e indução de rotas metabólicas como a do ácido salicílico (SA), ácido jasmônico (JA) e etileno (ET) que ativam a cascata de sinalização que resulta na transcrição de genes de defesa ao ataque de patógenos (Beckers *et al.*, 2009; Balmer, Pastor, Gamir, Flors, & Mani, 2015).

Shabana *et al.*, (2017) relatam que o uso de nim (*Azadirchta indica* A. Juss.) aplicada de maneira preventiva diminuiu o número de pústulas de ferrugem em plantas de trigo em 86,3%, e os autores relacionaram este controle à indução de resistência. Franzener, Schwan-Estrada, Moura, Kuhn, & Stangarli (2018), avaliaram que o efeito de extrato aquoso de eucalipto (*Corymbia citriodora* (Hook.)) promoveu a indução a resistência em plantas de pepino contra a antracnose causada pelo patógeno *C. lagenarium*, devido à síntese de peroxidase (67,2%) e β-1,3-glucanase (122,7%) e fenilalanina amônia liase (PAL) (18,5%) que são enzimas relacionadas a indução de resistência em plantas.

É possível que os extratos de *C. cajucara*, *P. marginatum* e *C. longa* possam estar relacionados com a ativação de respostas de defesa nos frutos da pimenta-de-cheiro, quando utilizados de maneira preventiva. Trabalhos futuros são necessários visando esclarecer o efeito destes extratos na indução de resistência, ativação de rotas bioquímicas e atividade enzimáticas em pimenta-de-cheiro *in vitro* e em campo, e garantir que o uso dos extratos de *C. cajucara*, *C. longa* e *P. marginatum* podem ser uma alternativa para o controle da antracnose no Amazonas.

9 Conclusão

Os extratos aquosos de *C. longa*, *C. cajucara* e *P. marginatum* não têm efeito, *in vitro*, sobre o desenvolvimento micelial e produção de conídios de *Colletotrichum* sp., e não apresentaram efeito curativo em frutos de pimenta-de-cheiro. O uso preventivo dos extratos resultou na redução da incidência da doença em 100%, (*Cur. Longa*) 66,7% (*P. marginatum*) e 58,3% (*C. cajucara*), podendo ser uma alternativa futura para o manejo integrado da antracnose no Amazonas.

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

Os autores agradecem o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM pela concessão de bolsa ao primeiro autor. Esse trabalho teve apoio para pesquisa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) Projeto nº 3287/13.

10 Referências não conferi

Abidin, M.H.Z., Hayyan, M., Hayyan, A., & Jayakumar, N.S. (2017). New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: A review. *Analytica Chimica Acta* 979, 1-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2017.05.012>

Akter, J., Islam, M.Z., Takara, K., Hossain, M.A., & Sano, A. (2019). Isolation and structural elucidation of antifungal compounds from Ryudai gold (*Curcuma longa*) against *Fusarium solani* sensu lato isolated from *American manatee*. *Comparative Biochemistry and Physiology* 219, 87-94. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.02.011>

Ali, A., Bordoh, P.K., Singh, A., Siddiqui, Y., & Droby, S. (2016). Post-harvest development of anthracnose in pepper (*Capsicum* spp): Etiology and management strategies. *Crop Protection* 90, 132-141. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.07.026>

Ali, A., Pheng, T.W., & Mustafa, M.A. (2015). Application of lemongrass oil in vapour phase for the effective control of anthracnose of 'Sekaki' papaya. *Journal of Applied Microbiology* 118, 1456-1464. <https://doi:10.1111/jam.12782>

Almeida, L.B., Matos, K.S., Assis, L.A.G., & Hanada, R.E. (2017). First report of anthracnose of *Capsicum chinense* in Brazil Caused by *Colletotrichum brevisporum*. *Plant Disease*, 101(6), 1035. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.032>

Araújo, E.R., Harand, W., Lima, I.C., Dias, F.C.R., Santana, A.A.D., & Carvalho, R.R.C.; (2014). Delson Laranjeira, D. Extratos de Piper marginatum e Azadirachta indica no controle de Colletotrichum scovillei em pimentão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 49(2), 88-94. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2014000200002>

Azevedo, M.M.B., Almeida, C.A., Chaves, F.C.M., Rodrigues, I.A., Bizzo, H.R., Alviano, C.S., Alviano, D.S. (2016). 7-hydroxycalamenene Effects on Secreted Aspartic Proteases Activity and Biofilm Formation of *Candida* spp. *Phcog Mag* 12, 36-40. <http://dx.doi.org/10.4103/0973-1296.176022>

Azevedo, M.M.B., Almeida, C.A., Chaves, F.C.M., Takaki, G.M.C., Rozental, S., Bizzo, H.R., Alviano, C.S., & Alviano, D.S. (2014). Effects of 7-Hydroxycalamenene isolated from *Croton cajucara* essential oil on growth, lipid content and ultrastructural aspects of *Rhizopus oryzae*. *Plant medicinal* 80, 550-556.

Balmer, A., Pastor, V., Gamir, J., Flors, V., & Mani, B.M. (2015). The 'prime-ome': towards a holistic approach to priming. *Trends in Plant Science* 20, 443-452. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.04.002>

Beckers, G.J.M., Jaskiewicz, M., Liu, Y., Underwood, W.R., He, S.Y., Zhang, S., & Conrath, U. (2009). Mitogen-Activated Protein Kinases 3 and 6 Are Required for Full Priming of Stress Responses in *Arabidopsis thaliana*. *American Society of Plant Biologists* 21, 944-953. <http://www.plantcell.org/cgi/doi/10.1105/tpc.108.062158>

Berni, R.F., & Cardoso, M.O. *Custos peracionais na cultura de pimenta-de-cheiro e estimativa de renda familiar em várzea do Amazonas*. (Documentos 105/2013), Manaus, AM, Embrapa Amazônia Ocidental.

- Brú, J., & Guzman, J.D. (2016). Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of *Piper marginatum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26, 767–779. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.03.014>
- Chen, C., Long, L., Zhang, F., Chen, Q., Chen, C., Yu, X., Liu, Q., Bao, J., & Long, Z. (2018). Antifungal activity, main active components and mechanism of *Curcuma longa* extract against *Fusarium graminearum*. *Plos One*, 13(3), 1-19.
- Conrath, U. (2011). Molecular aspects of defence priming. *Trends in Plant Science* 16, 524-531. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2011.06.004>
- Diao, Y.Z., Fan, J.R., Wang, Z.W., & Liu, X.L. (2013). First Report of *Colletotrichum boninense* Causing Anthracnose on Pepper in China. *Plant Disease*, 97(1), 138. <https://doi.org/10.1094/pdis-04-12-0403-pdn>
- Dorneles, K.R., Pazdiora, P.C., Silva, F.J.A., Moccellini, R., & Farias, C.R.J. (2018). Control of *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) using *Curcuma longa* (Linnaeus) Extract and effect of this extract on rice seed physiology. *Revista Caatinga*, Mossoró, 31(1), 99-105. <https://doi.org/10.1590/1983-21252018v31n112rc>
- Draz, I.S., Elkhwaga, A.A., Elzaawely, A.A., El-Zahaby, H.M., & Ismail, A.W.A. (2019). Application of plant extracts as inducers to challenge leaf rust of wheat. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29(6), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0109-9>
- Ezeonu, C.S., Tatab, V.S., Imo, C., Mamma, E., Mayel, M.H., Kukoyi, A.J., & Jeji, I.A. (2019). Inhibitory effect of aqueous and ethanolic extracts of neem parts on fungal rot disease of *Solanum tuberosum*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 22, 206-213. <https://doi.org/10.1155/2021/6696470>
- [FAO, \(2018\). Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. Disponível em: www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize. Acesso em: 20 de junho de 2020.](http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize)
- Favareto, R., Teixeira, M.B., Soares, F.A.L., Belisário, C.M., Cabral, J.F., Silva, E.A., Moia, T.A., & Cardozo-Filho, L. (2019). Extraction of bioactive compounds of leaves of *Duguetia furfuracea* (annonaceae) using green and organic solvents. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 36, 549-556. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190361s20170451>
- Franzener, G., Schwan-Estrada, K.R.F., Moura, G.S., Kuhn, O.J., & Stangarli, J.R. (2018). Induction of defense enzymes and control of anthracnose in cucumber by *Corymbiacitriodora* aqueous extract. *Summa Phytopathologica*, 44(1), 10-16. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2218>
- Gasparotto, L., Pereira, J.C.R., & Berni, R.F. (2014). *A antracnose da pimenta-de-cheiro*. (Comunicado Técnico 104/2014), Manaus, AM, Embrapa Amazônia Ocidental
- Hanada, R.E., Gasparotto, L., Perira, J.C.R., & Assis, L.A.G. (2011, agosto) *Ocorrência de Colletotrichum sp. em pimenta de cheiro (Capsicum chinense) no Amazonas*. Suplemento apresentado no XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Bento Gonçalves, RS, Brasil
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2017). Recuperado em 20 de janeiro, 2021 de www.sidra.ibge.gov.br/tabela/6619
- Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável Do Estado Do Amazonas (2019). Recuperado em 20 de janeiro, 2021 de <http://www.idam.am.gov.br/wp-content/uploads/2020/07/RAT-Produ%C3%A7%C3%A3o-Vegetal-4%C2%BA-Trim-2019.pdf>
- Liu, F., Tang, G., Zheng, X.; Li, Y., Sun, X., Qi, X., Zhou, Y., Xu, J., Chen, H., Chang, X., Zhang, S., & Gong, G. (2016). Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in peppers from Sichuan Province, China. *Scientific Reports* 6, 32761. <https://doi.10.1038/srep32761>

- Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento. Recuperado em 20 de janeiro, 2021 de http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons
- Martinez, J., Gomez, A., Ramirez, C., Gil, J., & Durango, D. (2020). Controlling anthracnose by means of extracts, and their major constituents, from *Brosimum rubescens* Taub. *Biotechnology Reports* 25, e00405. <https://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00405>
- Meng, X., Li, J., Bi, F., Zhu, L., & Ma, Z. (2015). Antifungal Activities of Crude Extractum from *Camellia semiserrata* Chi (Nanshancha) Seed Cake Against *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Penicillium italicum* *in vitro* and *in vivo* Fruit Test. *Plant Pathology Journal* 31, 414-420. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.06.2015.0098>
- Mohsan, M., Ali, S., Shahbaz, M.U., Saeed, S., & BURHAN, M. (2017). *In vitro* efficacy of different growth media and crude plant extracts against mycelia growth of *Phytophthora capsici*. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 5, 43-47. <https://doi.10.1007/s11356-017-0283-9>
- Nascimento, A.M., Ferreirac, D.M., Souza, E.F.J., Souzaa, L.M., Sasaki, G.L., Iacomini, M., Werner, M.F.P., & Cipriani, T.R. (2017). Gastroprotective effect and chemical characterization of a polysaccharide fraction from leaves of *Croton cajucara*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 153–159. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.044>
- Nazzaro, F., Fratianni, I.F., Coppola, I.R., & De Feo, V. (2017). Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals* 10, 86. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>
- Oliveira, C.V.S., Matos, K.S., Albuquerque, D.M.C., Hanada, R.E., & Silva, G.F. (2017). Identification of *Colletotrichum* isolates from *Capsicum chinense* in Amazon. *Genetics and Molecular Research*, 16(2), 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01879-9>
- Pagano, E., Romano, B., Izzo, A.A., & Borrelli, F., (2018). The clinical efficacy of curcumin-containing nutraceuticals: An overview of systematic reviews. *Pharmacological Research*, 134, 79–91. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.06.007>
- Park, J.Y., Kim, S.H., Kim, N.H., Lee, S.W., Jeun, Y.C., & Hong, J.K. (2017). Differential Inhibitory Activities of Four Plant Essential Oils on *In Vitro* Growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* Causing Fusarium Wilt in Strawberry Plants. *Plant Pathology Journal* 33, 582-588. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.06.2017.0133>
- Ranathunge, N.P., Mongkolporn, O., Ford, R., & Taylor, P.W.J. (2012). *Colletotrichum truncatum* Pathosystem on *Capsicum* spp: infection, colonization and defence mechanisms. *Australasian Plant Pathology* 41, 463-473. <https://dx.doi.10.1007/s13313-012-0156-0>
- Equipe RStudio (2020). *Desenvolvimento integrado para R. RStudio*, (Versão 4.0.2). [Software estatístico] PBC, Boston, MA. Recuperado de <http://www.rstudio.com/>
- Saini, T.J., Gupta, S.G., & Anandalakshmi, R. (2017). Detection of chilli anthracnose caused by *Colletotrichum cliviae* in India. *Australasian Plant Disease Notes*, 12(33), 1-4. <https://doi.10.1007/s13314-017-0260-7>
- Sganzerla, M., Coutinho, J.P., Melo, A.M.T., & Godoy, H.T. (2014). Fast method for capsaicinoids analysis from *Capsicum chinense* fruits. *Food Research International* 64, 718-725. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.003>
- Shabana, Y.M., Abdalla, M.E., Shahinb, A.A., El-Sawy, M.M., Draz, I.S., & Youssif, A.W. (2017). Efficacy of plant extracts in controlling wheat leaf rust disease caused by *Puccinia triticina*. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(1), 67-73. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejbas.2016.09.002>
- Sun, Y., Wang, Y., Han, L.R., Zhang, X., & Feng, J.T. (2017). Antifungal Activity and Action Mode of Cumenic Acid from the Seeds of *Cuminum cyminum* L. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Niveum* (FON) Causing *Fusarium* Wilt on Watermelon. *Molecules* 22, 2053. <https://dx.doi.org/10.3390/molecules22122053>

Suwor, P., Thummabenjenjapane, P., Sanitchon, J., Kumar, S., & Techawongstien, S. (2015). Phenotypic and genotypic responses of chili (*Capsicum annuum* L.) progressive lines with different resistant genes against anthracnose pathogen (*Colletotrichum* spp.). *European Journal of Plant Pathology* 143, 725-736. <https://doi.10.1007/s10658-015-0723-7>

Thomas, E.L., & Hoom, R.A.L. (2018). Ten Prominent Host Proteases in Plant-Pathogen Interactions. *International Journal of Molecular Sciences* 19, 639. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19020639>

Tyskiewicz, K., Tyskiewicz, R., Konkol, M., Rój, E., Sciseł, J.J., & Wozniak, K.S. (2019). Antifungal Properties of *Fucus vesiculosus* L. Supercritical Fluid Extract Against *Fusarium culmorum* and *Fusarium oxysporum*. *Molecules* 24, 3518. <https://dx.doi.org/10.3390%2Fmolecules22111914>

Wang, Y., Zhang, J., Sun, Y., Feng, J., & Zhang, X. (2017). Evaluating the Potential Value of Natural Product Cuminic Acid against Plant Pathogenic Fungi in Cucumber. *Molecules* 22, 1914. <https://dx.doi.org/10.3390%2Fmolecules22111914>

Wheeler, B.E.J.(1969). *An Introduction of Plant Diseases*. London, United Kingdom.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
TROPICAL

Capítulo 2

compostos ativos obtidos de extratos vegetais no controle de *colletotrichum* sp. associado a pimenta-de-cheiro (*capsicum chinense* jacq.)

MANAUS - AM

2021

COMPOSTOS ATIVOS OBTIDOS DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE *Colletotrichum* SP. ASSOCIADO A PIMENTA-DE-CHEIRO (*Capsicum chinense* Jacq.)**Resumo**

A amazônia é considerada o centro de diversidade de espécies do gênero *Capsicum chinense* encontrado-se uma diversidade de morfotipos, sendo a pimenta-de-cheiro a mais consumida pela população local e presente na culinária regional. A ocorrência da antracnose limita a produção ocasionando perdas de até 100%. Fungicidas são utilizados para o controle da doença, no entanto, o uso excessivo pode levar a seleção de fitopatógenos resistentes, e opções aos fungicidas tornam-se necessárias para o controle das doenças. Extratos de plantas que possuem propriedades antimicrobianas como opção a fungicidas estão sendo pesquisadas para o controle de fitopatógenos para uso na agricultura sustentável. O objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antifúngica de extratos fracionados de *Croton cajucara* Benth. (sacaca) *Piper marginatum* Jacq. (caapeba) e *Curcuma longa* Linn. (açafraão), sobre o crescimento micelial, esporulação, germinação dos conídios e controle da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro, e a identificação dos principais componentes presentes nas frações. Folhas (*C. cajucara* e *P. marginatum*) e rizomas (*C. longa*) foram utilizadas para extração dos compostos com solventes, metanol, acetato de etila e hexano. A fração hexânica (FH) e acetato de etila (FAE) de *C. longa* por apresentarem maior inibição do crescimento micelial e germinação dos conídios, foram selecionados para identificação dos compostos majoritários. Os resultados mostraram que a FH de *C. longa* foram os mais promissores, inibindo 59,2% do crescimento micelial, 49,8% da germinação dos conídios e reduzindo a incidência da antracnose em 33,3%. Os compostos identificados foram ar-turmerona (48,71%) e ar-turmerol (11,51%). Os extratos fracionados de *C. longa* têm potencial de inibir o fitopatógeno *Colletotrichum* sp. e reduzir a antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro.

Palavras Chave: Compostos bioativos, antracnose, controle alternativo.

Abstract

The Amazon is considered the center of diversity of species of the genus *Capsicum chinense* and a diversity of morphotypes of this species is found, with sweet pepper being the most consumed by the local population and present in regional cuisine. The occurrence of anthracnose limits production causing losses of up to 100% of production. Fungicides are used for disease control, with the disadvantage of selecting resistant phytopathogens and new molecules becoming necessary for disease control. Plant extracts having antimicrobial properties with fungicide properties are being researched for the control of phytopathogens for use in sustainable agriculture. The aim of the present study was to evaluate the antifungal activity of fractionated *Croton cajucara* Benth extracts. (sack) *Piper marginatum* Jacq. (caapeba) and *Curcuma longa* Linn. (saffron), under mycelial growth, sporulation, conidia germination and anthracnose control in sweet pepper fruits, and identification of chemical compounds with antifungal activity. Leaves (*C. cajucara* and *P. marginatum*) and rhizomes (*C. longa*) were used to extract the compounds with solvents, methanol, ethyl acetate and hexane, the hexane fraction (FH) and ethyl acetate (FAE) of *Cur. longa* as they present greater inhibition of mycelial growth and conidia germination, they were selected for identification of the major compounds. The results showed that the FH of *C. longa* were the most promising inhibiting 59.2% of mycelial growth, 49.8% conidia germination and reducing the incidence of anthracnose by 33.3%, and the identified compounds were ar-turmerone (48.71%) and ar-turmerol (11.51%) as compounds of the FH of *C. longa*. The results show that the fractionated extracts have the potential to inhibit the phytopathogen *Colletotrichum* sp. and anthracnose in sweet pepper fruits.

Keywords: Bioactive compounds, anthracnose, alternative control.

11 INTRODUÇÃO

As pimentas do gênero *Capsicum* spp. são amplamente cultivadas no mundo, com produção global de 38.027,164 t, (FAO, 2019), sendo a China, o principal produtor mundial com produção de 12.656,804.92 t. No Brasil, a produção de pimentas em 2017 foi de 46.702 t., tendo o estado do Pará como o maior produtor, com 18.048 t. (IBGE, 2017). No Amazonas, a estimativa de área plantada de pimenta-de-cheiro foi 1.397,21 ha e produção estimada foi de 6.546,08 t. (IDAM, 2109), onde o cultivo é realizado basicamente por pequenos produtores.

A Região Amazônica é o centro de diversidade de espécies do gênero *Capsicum chinense* (MOSES et al., 2014), sendo a pimenta-de-cheiro a variedade mais cultivada no Estado do Amazonas, encontrando-se praticamente em todos os pratos da culinária da região (CHAVES e FURTADO, 2017). Possui elevada importância econômica principalmente devido a alta demanda local dos frutos *in natura*, fato que contribuiu com a implantação de cultivos comerciais desta hortaliça constituindo uma importante fonte de renda para os agricultores locais da região (CARDOSO et al., 2014).

A expansão e aumento da produtividade do cultivo da pimenta-de-cheiro no Amazonas está diretamente afetado pela baixa fertilidade dos solos e, se corrigido, pelo uso incorreto de fertilizantes (MOREIRA et al., 2010), manejo inapropriado da irrigação (GUERINO et al., 2017) e surgimentos de pragas (SOUZA et al., 2020), além da ocorrência de problemas fitossanitários como de doenças causadas por nematoides (PINHEIRO et al., 2014), bactérias (ROSSATO et al., 2018) e fungos, sendo a antracnose, causada por *Colletotrichum* spp. (SILVA et al., 2018), a principal doença da cultura, levando a perdas de até 100% na produção da hortaliça (HANADA et al., 2011).

No Amazonas, três espécies de *Colletotrichum* são descritas afetando a pimenta-de-cheiro: *C. siamense*, *C. scovillei*, (OLIVEIRA et al., 2017), *C. brevisporum* (ALMEIDA et al., 2017). O fruto é a parte mais afetada pela doença, impedindo a comercialização, acarretando perdas para o agricultor. Os sintomas nos frutos são lesões inicialmente pequenas e escuras, circulares e deprimidas, que progridem formando círculos concêntricos e pontos negros que corresponde aos acérvulos do fungo, de onde surge uma massa alaranjada constituída pelos conídios do fitopatógeno (ALMEIDA et al., 2017).

O controle mais desejável é por meio do uso de variedades resistentes, porém, no mercado não existem variedades resistentes para a antracnose em pimenta-de-cheiro e, o controle químico é o mais utilizado (GASPAROTTO; PEREIRA; BERNI, 2014). O uso consecutivo de fungicidas químicos pode levar a seleção de variantes resistentes (FRAC, 2019). Os complexos fúngicos *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* causadores da antracnose em pimenta, estão registrados com risco médio de desenvolvimento de resistência aos fungicidas, tornando-se problema sério para a produção de pimenta-de-cheiro (OLIVEIRA et al., 2017).

O gênero *Colletotrichum* spp., agente causal da antracnose em pimentas e pimentão, foi relatado como resistente a fungicidas com diferentes modos ação. Ramdial, Hosein e Rampersad (2016) relataram que *C. truncatum*, foi resistente ao fungicida benzimidazol, inibidor da polimerização de β -tubulina. Paramita, Sumardiyono e Sudarmadi (2014), relataram que *Colletotrichum* sp., foi resistente ao fungicida cimoxanil, com modo de ação desconhecido. Kim et al. (2005), relataram que *Colletotrichum* spp. foi resistente aos fungicidas protetores, ditianon, clorotalonil e propinebe e aos fungicidas inibidores da biossíntese de ergosterol (EBI) tebuconazol, hexaconazol e procloraz. Nesse contexto há necessidade de novas opções ao uso de fungicidas, como os extratos vegetais que possuem ampla diversidade de compostos que inibem o crescimento de fitopatógenos (SUN et al., 2017).

O uso de extratos vegetais é uma opção aos fungicidas químicos para o controle de *Colletotrichum* spp. devido a presença de compostos com potencial antifúngica que podem agir diretamente na célula fúngica (WANG et al., 2017), ou podem ter efeito indireto sobre a planta, promovendo indução de resistência (ELYOUSR et al., 2020). O efeito direto ou indireto dos compostos dos extratos vegetais é devido à presença de fenóis, polifenóis, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos (SUN et al., 2017). Os compostos podem agir atravessando ou acumulando-se em membranas de células fúngicas, promovendo a quebra das membranas e parede celular e conseqüentemente vazamento do conteúdo citoplasmático, inibindo o desenvolvimento fúngico em plantas hospedeiras (CHEN et al., 2016).

Algumas pesquisas relatam o efeito dos extratos vegetais no controle de fitopatógenos. Chen et al. (2018) observaram que os compostos de *Curcuma longa*, curdiona, se combinado com curcumina, curzereno, curcumenol, curcumol e germacrona, identificados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), inibiram 93,6%, 88,9%, 82,7%, 63,6% e 56,4% o crescimento micelial de *Fusarium graminearum*. Ramírez et al. (2020), relataram que o extrato hexânico de *Stevia rebaudiana*, na concentração de 833 ppm inibiu 50% do

crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* associado ao cultivo de tomate, e através espectroscópicos de infravermelho (IR), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN-H) foi identificado a austroinulina, principal composto de inibição.

Na Amazônia existe diversidade de espécies de plantas utilizadas na medicina tradicional, possuindo propriedades antimicrobianas e antifúngicas que poderiam ser selecionadas e utilizadas no controle de doenças fitopatológicas como a antracnose em pimenta-de-cheiro. As espécies *Croton cajucara* Benth., *Piper marginatum* Jacq., e *Curcuma longa* Linn. são relatadas por possuírem potencial antifúngico. O espécie *Croton cajucara*. é um arbusto que pertence à ordem Euphorbiales e família Euphorbiaceae, popularmente conhecida como “sacaca”, com distribuição na região Amazônica (AZEVEDO *et al.*, 2013). A planta é utilizada amplamente na medicina tradicional através da ingestão oral da infusão ou cocção de suas folhas ou cascas, para tratamento de úlceras gástricas, distúrbios hepáticos, diabetes, febre, malária e no índice elevados de colesterol (NASCIMENTO *et al.*, 2016, AZEVEDO *et al.*, 2014), e algumas pesquisas relatam que possui propriedades antioxidantes (MACIEL *et al.*, 2009) e efeito antileishmania (LIMA *et al.*, 2015), antibacteriano e antifúngico (AZEVEDO *et al.*, 2013; AZEVEDO *et al.*, 2014). Azevedo *et al.* (2016) testou um dos principais compostos presente em *C. cajucar* o 7-hidroxicalameneno tendo poder antimicrobiano contra *Candida* spp. inibindo em 58% o desenvolvimento fúngico.

A espécie *P. marginatum* pertence à família Piperaceae; é um arbusto aromático com pecíolo alado e folhas em forma de coração, encontrando-se distribuído no Centro e Sul das Américas, e no Brasil é conhecido como caapeba; o extrato das folhas é utilizado para tratamento de doenças gastrointestinais, reumatismo e tumores, (BRÚ e GUZMAN, 2016). Pesquisas relatam que *P. marginatum* mostra potencial efeito contra fungos e bactérias fitopatogênicas. Araújo *et al.* (2014), avaliou o efeito do extrato metanólico de *P. marginatum*, resultando na inibição de 82,4% do crescimento micelial e 81,2% do diâmetro da lesão em frutos de pimentão causado pelo fitopatógeno *Colletotrichum scovillei*.

A *C. longa*, popularmente conhecida como “açafrão”, é uma planta herbácea perene pertencente à família Zingiberaceae, nativa do sul da Ásia tropical, mais cultivada extensivamente em todo o mundo, os rizomas são utilizadas como especiaria para preparo de alimentos, proporcionando cor e contribuindo no sabor dos alimentos, devido à presença de suas oleorresinas e óleo essencial (NELSON *et al.*, 2017), e como conservante na indústria de alimentos (GUL e BAKHT, 2015). É amplamente utilizada na medicina tradicional chinesa e

indiana, sendo aplicadas em feridas recentes, hematomas e no tratamento de diversas doenças urológicas, hepatobiliares, anticancerígena gastrointestinais, doenças de pele, infecções e problemas ginecológicos (TIAN et al., 2021; PAGANO et al., 2018), e com potencial, antioxidante, antimicotoxigênica e antifúngica (AVANÇO et al., 2017). Alsahli et al. (2108), relatam que tratamento das sementes de girassol com extrato de *C. longa* reduziu a incidência e severidade da podridão da raiz em girassol (*Heliantheae annuus*), causada por *Fusarium solani* (Mart.) Sac., após quatro semanas, em 37,3% e 23,1%, se comparado ao tratamento que só foi inoculado com patógeno, além disso, o extrato induziu proteínas relacionados a defesa como a quitinase e a defensina.

A disponibilidade de plantas medicinais na Amazônia apresentando compostos com propriedades antimicrobianas torna uma opção ao uso de fungicidas no controle de doenças. O objetivo do trabalho foi avaliar extratos fracionados de três espécies de plantas medicinais, *Croton cajucara*, *Piper marginatum* e *Curcuma longa*, no crescimento micelial, esporulação e germinação de *Colletotrichum* e, no controle da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro, bem como a identificação dos componentes presentes nas frações.

12 MATERIAL E MÉTODOS

12.1 Obtenção do isolado de *Colletotrichum* sp.

Os isolados de *Colletotrichum* sp. foram coletados em uma propriedade localizado no km 24 da Rodovia BR 174 (Manaus – Presidente Figueiredo) a partir de frutos de pimenta-de-cheiro apresentando sintomas típicos da antracnose. Foi realizada a identificação morfológica do fungo por meio da observação de estruturas reprodutivas em microscópio ótico (Zeiss®) sob objetiva de 40X. O isolamento indireto foi realizado conforme Alfenas e Mafia (2016).

12.2 Obtenção dos Extratos fracionados obtidos de *C. cajucara*, *P. marginatum* e *C. longa*

As amostras de rizomas de *C. longa* e folhas de *C. cajucara* e *P. marginatum* foram coletadas folhas maduras, no horário da manhã, no setor sul da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), no período da manhã, em seguida foram lavadas em água corrente, secas em temperatura ambiente do laboratório (± 26 °C), seguido de secagem em estufa de ventilação forçada a 70 °C durante 48 h, e trituradas em moinho de quatro lâminas (NL-26, Mondial power, Brasil) até a obtenção de pó seco.

As frações metanólica (FM), acetato de etilo (FAE) e hexânica (FH) dos extratos vegetais foram obtidas a partir de 100 g de material vegetal seco, macerado durante 48 h em 400 mL na frequência dos solventes com polaridades decrescentes, hexano (Hex), seguido de acetato de etila (AcEtO) e metanol (MeOH). As frações obtidas foram filtradas e concentradas em rotaevaporador (801 Rota Evaporador Fisatom) a 50 rpm e temperatura de 45 °C, para obtenção das FM, FAE e FH de cada extrato vegetal.

12.2 Frações vegetais sobre o crescimento micelial, esporulação e germinação dos conídios de *Colletotrichum* sp.

Foi quantificado o crescimento micelial e a produção de conídios do fungo em placas de Petri de 60 mm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA acrescido das FM, FAE e FH na concentração de 5 mg.mL⁻¹, diluídas previamente em 200 µL de Dimetilsulfóxido (DMSO). No centro da placa de Petri (60 mm de diâmetro) foi depositado um disco de meio de cultura de 5 mm de diâmetro contendo a colônia do fungo, e mantida em câmara de crescimento a 25 °C até o micélio atingir a borda da placa. A avaliação foi realizada pela tomada das medidas diametralmente opostas da colônia com auxílio de um paquímetro digital (ZAAS). A quantificação da esporulação foi feita com auxílio de um hemacitômetro e observado em objetiva de 40X em microscópio ótico (Zeiss).

Para avaliar a germinação dos conídios, 1 mL de suspensões de conídios na concentração de 10⁵ conídios.mL⁻¹, foram cultivados em 20 mL de meio de cultura líquida batata dextrose (BD), acrescidas das frações FM, FAE e FH de *C. cajucara*, *P. marginatum* e *C. longa*, na concentração de 5 mg.mL⁻¹, diluídas previamente em 200 µL de Dimetilsulfóxido (DMSO). Em microtubos com capacidade para 1,5 mL foi depositado 1 mL do meio líquido BD contendo a mistura e incubados durante 17 h em câmara de crescimento a 25 °C, adaptado de Pangallo et al. (2017). Devido a *Colletotrichum* sp. precisar de um meio semi sólido para germinar, uma alíquota de 10 µL do meio líquido BD foi extraída e depositada em quatro pontos equidistantes em placas de Petri (60 mm de diâmetro), contendo uma fina camada de meio Agar-Água (A-A). Após oito horas foram avaliadas a germinação dos tubos germinativos e observado em objetiva 40X em microscópio ótico (Zeiss). O conídio foi considerado germinado quando o comprimento do tubo germinativo foi igual ou maior que a largura do conídio.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com nove tratamentos e cinco repetições, sendo os tratamentos três extratos fracionados (FM, FAE, FH) de três espécies de plantas (*C. cajucara* e *P. marginatum* e *C. longa*), e como tratamento

controle, placas de Petri contendo meio de cultura BDA e BDA acrescido de DMSO. Os dados da produção de conídios foram transformados a Log^{10} para análise de variância. A porcentagem da inibição do crescimento micelial (ICM%) dos tratamentos foram comparação com o controle BDA contendo DMSO usando a seguinte fórmula: $\text{ICM} (\%) = [(\text{diâmetro controle} - \text{diâmetro tratamento}) / \text{diâmetro controle} \times 100]$ (AKTER *et al.*, 2019).

Com os dados do crescimento micelial, esporulação e germinação dos conídios foi realizada a análise de variância (ANOVA), e quando os dados foram significativos foi realizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade no Software R Studio Versão 4.0.2 (RStudio, 2020)

12.3 Atividade da Fração hexânica (FH) de *Curcuma longa* sobre o crescimento micelial e esporulação dos conídios de *Colletotrichum sp.*

Foi selecionada a FH de *C. longa* por possuir os melhores resultados (item 12.2), e avaliadas as concentrações de 3 e 1 mg.mL^{-1} , além da concentração 5 mg.mL^{-1} , sobre o crescimento micelial e esporulação dos conídios.

O experimento foi realizado em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com três tratamentos e cinco repetições, sendo os tratamentos três concentrações 1, 3 e 5 mg.mL^{-1} , e como tratamento controle, placas de Petri contendo meio de cultura BDA e BDA acrescido de DMSO. Os dados da produção de conídios foram transformados a Log^{10} para análise de variância. A porcentagem da inibição do crescimento micelial (ICM%) dos tratamentos e foram comparação com o controle BDA contendo DMSO usando a seguinte fórmula: $\text{ICM} (\%) = [(\text{diâmetro controle} - \text{diâmetro tratamento}) / \text{diâmetro controle} \times 100]$ (AKTER *et al.*, 2019). A avaliação do diâmetro da colônia foi realizada quando o micélio fúngico atingiu a borda das placas de Petri.

Com os dados do crescimento micelial e esporulação foram realizadas a análise de variância (ANOVA), e quando os dados foram significativos foi realizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade no Software R Studio Versão 4.0.2 (RStudio, 2020)

12.4 Obtenção das subfrações hexânica (FH) e acetato de etila (FAE) de rizomas de *Curcuma longa*

As FH e FAE de *C. longa* foram selecionadas para separação das frações bioativas em cromatografia a vácuo. Uma amostra de 250 g de *C. longa* moída foi macerada durante 48 h em 400 mL, de maneira alternada com os solventes em polaridade crescente, hexano e acetato de etila. As frações obtidas foram filtradas em dupla camada de papel filtro e concentradas em

rotaevaporador (801 Rota Evaporador Fisatom) a 50 rpm e temperatura de 45 °C, para obtenção das FH e FAE. As frações obtidas foram submetidas a novo fracionamento em cromatografia a vácuo, utilizando como fase estacionária sílica gel de 70 - 230 µm de diâmetro. Para a FH foram utilizados os eluentes hexano e acetato de etila e para a FAE os eluentes hexano, acetato de etila e metanol. A cromatografia a vácuo para a FH foi realizada usando funil de separação com capacidade de 1000 mL, acoplado a bomba de vácuo (121 CV, Prismatec, Brasil), que foi pré-montado com sílica, formando uma coluna de 15 cm de altura, seguido do empacotamento com 750 mL de etanol. Uma pastilha (a pastilha foi preparada utilizando sílica gel misturada a FH de *C. longa* diluída em hexano) contendo 6,34 g da FH de *C. longa* foi acrescentada sobre a superfície da coluna formando uma fina camada de 0,5 cm de altura. A eluição foi realizada de acordo com a seguinte frequência: FH1 [Hex 1:0 (750 mL)], FH2 [Hex/AcEtO 95:5 (300 mL)], FH3 [Hex/AcEtO 85:15 (300 mL)], FH4 [Hex/AcEtO 7:3 (300 mL)], FH5 [Hex/AcEtO 5:5 (300 mL)], FH6 [AcEtO 1:0 (500 mL)]. A FAE foi empacotada com Hex/AcEtO 9:1 (400 mL) e, sobre a superfície da coluna, foi acrescentada uma pastilha (a pastilha foi preparada utilizando sílica gel misturada a FAE de *C. longa* diluída em metanol) contendo 13,2 g da FAE (a FAE foi misturada na sílica gel utilizando como dissolvente metanol), formando uma camada de 0,5 cm de altura. A eluição foi realizada na seguinte frequência: FAE1 [Hex/AcEtO 9:1 (400 mL)], FAE2 [Hex/AcEtO 8:2 (300 mL)], FAE3 [Hex/AcEtO 7:3 (300 mL)], FAE4 [Hex/AcEtO 5:5 (300 mL)], FAE5 [AcEtO/MeOH 9:1 (300 mL)], FAE6 [MeOH 1:0 (500 mL)]. As amostras foram coletadas em Erlenmeyer e concentradas em rotaevaporador (801 Rota Evaporador Fisatom) a 50 rpm e temperatura de 45 °C, obtendo-se as diferentes frações da FH e FAE.

12.5 Atividade antifúngica das FH e FAE

As frações obtidas por cromatografia a vácuo FH-1, FH-2, FH-3, FH-4, FH-5, FH-6, FAE-1, FAE-2, FAE-3, FAE-4, FAE-5, FAE-6, foram avaliadas sobre o crescimento micelial do *Colletotrichum* sp. Em placas de cultura de células de 24 poços com capacidade para 3,5 mL (K12-024, Kasvi, Brasil) foram acrescentados 3 mL de meio de cultura BDA contendo suspensão de esporos na concentração de 10^5 conídios.mL⁻¹ e 500 µg.mL⁻¹ das frações, diluídas em 200 µL Dimetilsulfóxido (DMSO).

O experimento foi realizado com doze tratamentos e três repetições, sendo os tratamentos as FH-1, FH-2, FH-3, FH-4, FH-5, FH-6, FAE-1, FAE-2, FAE-3, FAE-4, FAE-5, FAE-6. Os controles foram meio de cultura BDA, BDA acrescido de DMSO e fungicida Nativo (Trifloxistrobina-Tebuconazol, Bayer, Suíça), na dose de 1,5 µL.mL⁻¹ adicionado ao meio de

cultura BDA. A avaliação foi ao olho nu pela presença ou ausência do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp., no sexto dia após a instalação do experimento, quando o controle BDA acrescido de DMSO colonizou o poço da placa de cultura de células. As frações que inibiram o crescimento fúngico foram selecionadas para o teste de concentração inibitória mínima (CIM).

12.6 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) das frações hexánicas (FH) e de acetato de etila (FAE) de *Curcuma longa*

As frações que inibiram o crescimento micelial (FH2, FH3, FH4, FH5, FH6, FAE2, FAE3) foram selecionadas e avaliadas para concentração inibitória mínima (CIM). Soluções estoques contendo 1000 µg das frações FH2, FH3, FH4, FH5, FH6, FAE2, FAE3 foram diluídas em 400 µL DMSO. Concentrações de 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62 µg.mL⁻¹ das frações foram obtidas através da diluição em 10 mL de meio de cultivo BDA contendo 300 µL de suspensão de esporos na concentração de 10⁵ conídios.mL⁻¹. Alíquotas de 2 mL do meio BDA foram depositadas em poços de placas de cultura celular, capacidade de 3,5 mL e 24 poços (K12-024, Kasvi, Brasil), cultivados durante seis dias.

O experimento foi realizado em esquema fatorial 7 x 6, sendo o primeiro fator sete frações (FH2, FH3, FH4, FH5, FH6, FAE2, FAE3) e o segundo fator seis concentrações (500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,62 µg.mL⁻¹), com cinco repetições, sendo os controle meio de cultura BDA, BDA diluído em DMSO e fungicida Nativo (Trifloxistrobina-Tebuconazol, Bayer, Suíça), na dose de 1,5 µL.mL⁻¹. A avaliação foi ao olho nu pela presença ou ausência do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp., no sexto dia três dias após o micelio colonizar o poço das placas de cultura celular do controle BDA contendo DMSO. A CIM foi considerada a menor concentração do extrato fracionado que inibiu o crescimento visual de *Colletotrichum* sp. (AVANÇO *et al.*, 2017).

12.7 Análise química por ionização química a pressão atmosférica acoplado a espectrometria de massas (APCI-MS) das FH e FAE de *Curcuma longa*

Soluções estoque (1mg.mL⁻¹) das amostras FH2, FH3, FH4, FH5, FH6, FAE2 e FAE3, foram preparadas em metanol. Aliquotas (5 µL) dessas soluções foram diluídas a 5 µg.mL⁻¹, e analisadas por infusão direta no espectrômetro de massas. Todos os espectros de massas foram registrados em modo de monitoramento contínuo utilizando o equipamento TSQ Quantum Access, equipado com fonte de APCI (*Atmospher Pressure Chemical Ionization*) e operando no modo positivo e negativo de aquisição para as análises de espectrometria de massas (MS).

Os espectros foram obtidos a partir da média de pelo menos 10 espectros adquiridos. As amostras foram infundidas na fonte de APCI através da bomba seringa do equipamento (10 $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$). Os espectros MS/MS foram obtidos a partir da aplicação de energia de 25 a 35 eV.

12.8 Análises por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas (CG-MS)

As amostras foram diluídas em diclorometano ($1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) e analisadas por CG-EM. Para a análise em CG foi utilizada uma coluna DB-5 (30m x 0,25mm x 0,25 μm) e temperatura programada de 60 a 240 $^{\circ}\text{C}$ com um gradiente $3^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Hélio foi utilizado como gás de arraste com fluxo de 0,80 mL / min. O modo de injeção foi split com razão 1:50, com o injetor a 250°C e o volume de injeção $1\mu\text{L}$. Os espectros de massas da CG foram obtidos em uma faixa de detecção de massa/carga (m/z) 40-600. Para obtenção do índice de retenção foi injetada uma série homóloga de hidrocarbonetos (C8-C30). Os índices de retenção foram calculados utilizando a equação de Van der Dool-Kratz (DOOL; KRATZ, 1963). Os constituintes foram identificados com base nos cálculos dos índices de retenção e comparados aos espectros da literatura de Adams, (2007).

12.9 Fração hexânica (FH) de *Curcuma longa* na incidência da antracnose em frutos destacados de pimenta-de-cheiro.

Frutos de pimenta-de-cheiro foram coletados em propriedades de agricultores localizados no Ramal Boa Esperança (Rodovia BR 174 km 120, Presidente Figueiredo-AM, Brasil). Os frutos foram lavados em água corrente e desinfestados em álcool 70% por cinco min, hipoclorito de sódio 1,5% por 2 min seguido de lavagem em água destilada esterilizada. Foram depositados três frutos em caixas plásticas tipo Gerbox, previamente lavadas e desinfestadas com álcool 70% e esterilizadas em luz ultravioleta (UV) durante 20 min, e forradas com camada dupla de papel de filtro esterilizado, umedecido com 10 mL de água destilada esterilizada.

Os extratos da FH de *C. longa*, nas concentrações de 5 e 3 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, foram diluídas em 200 μL Dimetilsulfóxido (DMSO) e pulverizados sobre a superfície dos frutos até o ponto de escorrimento, 48 h antes da inoculação de *Colletotrichum* sp., para avaliar o efeito preventivo. A inoculação foi realizada pela aspersão de suspensão de conídios sobre a superfície dos frutos até o ponto de escorrimento, na concentração de 10^5 conídios. mL^{-1} . As caixas de Gerbox contendo os frutos foram incubados em câmara de crescimento e a avaliação da incidência da

doença foi feita ao olho nu pela presença ou ausência de sintomas da antracnose em frutos de pimenta de cheiro, seis dias após a inoculação do patógeno (WHEELER, 1969).

O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (três extratos vegetais) e sete repetições, sendo a unidade experimental uma caixa Gerbox contendo três fruto, e como tratamento controle, frutos não inoculados (frutos pulverizados com água destilada esterilizada), e frutos inoculados com o patógeno misturado em água contendo DMSO na concentração de 40 $\mu\text{L.mL}^{-1}$.

13 RESULTADOS

13.1 Frações vegetais sobre o crescimento micelial, esporulação e germinação dos conídios de *Colletotrichum* sp

Houve efeito significativo da inibição do crescimento micelial em 7,9%, 12,2%, 8,7%, 14,2% e 35,4% para as frações FAE, FH (*C. cajucara*), FM, FAE e FH (*C. longa*), respectivamente (Tabela 1). Na avaliação da esporulação observou-se diferença significativa entre os tratamentos, sendo a produção de conídios estimuladas nos tratamentos FM, FAE, FH de *C. cajucara*, FM, FH de *P. marginatum* e FH de *C. longa* se comparado ao tratamento controle BDA.DMSO, porém, não se observou diferença significativa entre os tratamentos FM, FH de *C. cajucara*, FAE de *P. marginatum*, FM, FAE de *C. longa* se comparado ao tratamento controle BDA (Tabela 1). No teste da germinação dos conídios observou-se que A FH *C. longa* inibiu 49,8% a germinação dos conídios (Tabela 1).

Tabela 1. Efeito das frações metanólicas (FM), acetato de etila (FAE) e hexânica (FH) obtidas de folhas de *Croton cajucara* e *Piper marginatum* e rizomas *Curcuma longa*, na inibição do crescimento micelial (ICM) esporulação e germinação dos conídios do fungo *Colletotrichum* sp. na concentração de 5 mg.mL^{-1}

Tratamentos	Espécies	Crescimento micelial (mm)	ICM (%)	Esporulação (conídios.mL ⁻¹)	Germinação conídios (%)
FM	<i>C. cajucara</i>	46,4ab	+2,4	6,3ab	-
FAE	<i>C. cajucara</i>	41,7c	7,9	6,4a	99,3a
FH	<i>C. cajucara</i>	39,8cd	12,2	6,3ab	99,3a
FM	<i>P. marginatum</i>	47,5a	+4,8	6,8a	-
FAE	<i>P. marginatum</i>	44,5b	1,7	6,1abc	-
FH	<i>P. marginatum</i>	44,5b	1,8	6,5a	-
FM	<i>C. longa</i>	41,4cd	8,7	5,4bc	96,7b
FAE	<i>C. longa</i>	38,8d	14,2	5,2c	97,9b
FH	<i>C. longa</i>	29,2e	35,4	6,8a	49,8c
BDA		47,2ab		5,5bc	99,5a
BDA.DMSO		45,3ab	0,0	5,2c	99,8a
C.V%		2,83		7,05	0,49

Medias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. (-) = Não realizado; (+) = superior ao diâmetro do tratamento controle (BDA.DMSO); ICM = inibição do crescimento micelial.

Semelhantes resultados foram encontrados utilizando a FH de *C. longa* nas concentrações de 1, 3 mg.mL⁻¹, inibindo significativamente o crescimento micelial em 38,6% e 59,2% (Tabela 2). Na avaliação da esporulação para a FH de *C. longa* nas concentrações de 1, 3 mg.mL⁻¹, além da concentração de 5 mg.mL⁻¹ observou-se diferença significativa se comparada aos tratamentos controle BDA e BDA.DMSO, observando-se que as concentrações da FH de *C. longa* promoveram estimulação da esporulação do que os tratamentos controle (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito da fração hexânica (FH) de *Curcuma longa* sobre o crescimento micelial e esporulação dos conídios de *Colletotrichum* sp, agente causal da antracnose em pimentas-de-cherio, avaliadas nas concentrações de 1, 3 e 5 mg.mL⁻¹.

Tratamento	Concentrações (mg.mL ⁻¹)	Crescimento micelial (mm)	ICM (%)	Esporulação (Conídios.mL ⁻¹)
FH	1	18,8b	38,6	7,2a
FH	3	12,5c	59,2	7,2a
FH	5	12,7c	58,3	7,2a
BDA	0	31,5a		5,8b
BDA.DMSO	0	30,6a	0,0	6,0b
C.V%		2,16		1,30

Medias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. ICM = inibição do crescimento micelial

13.2 Determinação da inibição do crescimento micelial das subfrações acetato de etila (FAE) e fração hexânica (FH) de *Curcuma longa*

As FAE e FH de *C. longa* por foram selecionados e subfracionadas por cromatografia a vácuo, obtendo-se doze frações, FH-1, FH-2, FH-3, FH-4, FH-5, FH-6, FAE-1, FAE-2, FAE-3, FAE-4, FAE-5 e FAE-6 e foram avaliados para determinar o efeito antifúngico usando a concentração de 500 µg.mL⁻¹ (Figura 1). As frações FH-2, FH-3, FH-4, FH-5, FH-6, FAE-2 e FAE-3 inibiram o crescimento micelial do fungo fitopatogênico *Colletotrichum* sp., semelhante ao tratamento com fungicida, porém não se observou inibição do crescimento micelial para as frações FH-1, FAE-1, FAE-4, FAE-5 e FAE-6 (Figura 1).

As FH-2, FH-3, FH-4, FH-5, FH-6, FAE-2 e FAE-3 que inibiram o crescimento micelial foram selecionados e utilizadas para determinar a concentração inibitória mínima (CIM). As frações FH-2, FH-3, FH-4 e FH-5 com valores de CIM 500, 250, 500 e 500 µg.mL⁻¹, inibiram o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp.

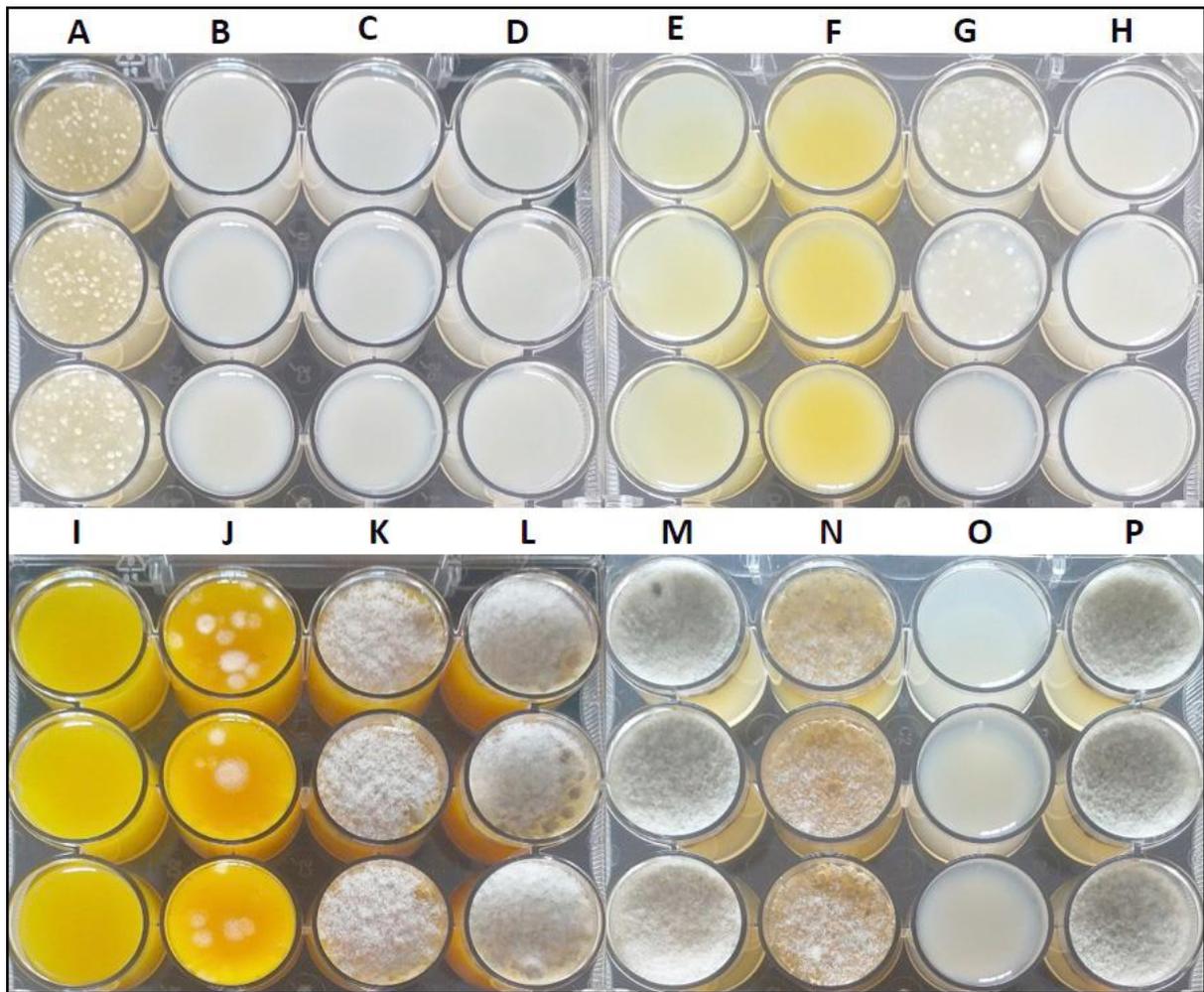


Figure 1. Efeito das frações hexânicas FH-1, FH-2, FH-3, FH-4, FH-5, FH-6 e acetato de etila FAE-1, FAE-2, FAE-3, FAE-4, FAE-5, FAE-6 de *Curcuma longa*, sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. na concentração de 500 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. **A)** FH-1 (Hex 1:0); **B)** FH-2 (Hex/ Ac.EtO 95:5); **C)** FH-3 (Hex/ Ac.EtO 85:15); **D)** FH-4 (Hex/Ac.EtO 7:3); **E)** FH-5 (Hex/ Ac.EtO 5:5); **F)** FH-6 (Ac.EtO 1:0); **G)** FAE-1 (Hex/ Ac.EtO 9:1); **H)** FAE-2 (Hex/ Ac.EtO 8:2); **I)** FAE-3 (Hex/ Ac.EtO 7:3); **J)** FAE-4 (Hex/ Ac.EtO 5:5); **K)** FAE-5 (Ac.EtO/MeOH 9:1); **L)** FAE-6 (MeOH 1:0); **M e P)** Controle branco (BDA); **N)** Controle negativo (BDA.DMSO); **O)** Controle positivo (Fungicida Nativo).

13.3 Perfil espectrométrico das frações acetato de etila (FAE) e frações hexânicas (FH) de *Curcuma longa*

O espectro APCI-EM no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) para FH-2 (A), FH-4 (C), FH-5 (D), FH-6 (E) e FAE-2 (F), FAE-3 (G), que inibiram o crescimento micelial, mostram a abundância relativa dos íons com massa carga (m/z) 217 (Figura 2), exceto no espectro B (FH-3) com m/z 235. No espectro FAE-3 (G) foram observados três picos com íons com m/z 369, 339 e 309 pertencentes aos curcuminóides, curcumina, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina. Para determinar se os curcuminóides estavam envolvidos na inibição do crescimento micelial foram realizadas APCI-MS no modo positivo ($[\text{M}+\text{H}]^+$) das FAE-4 e FAE-5, que não inibiram a

viabilidade do crescimento micelial (Figura 1, J e K). O espectro de massas mostrou a presença dos íons com m/z 369, 339 e 309 correspondendo aos curcuminóides, curcumina, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina (Figura 3, marcados em círculos), demonstrando que a presença dos curcuminóides na FAE-3 (G) (Figura 2) não está relacionado inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp., e que a inibição se deve principalmente a presença dos sesquiterpenos.

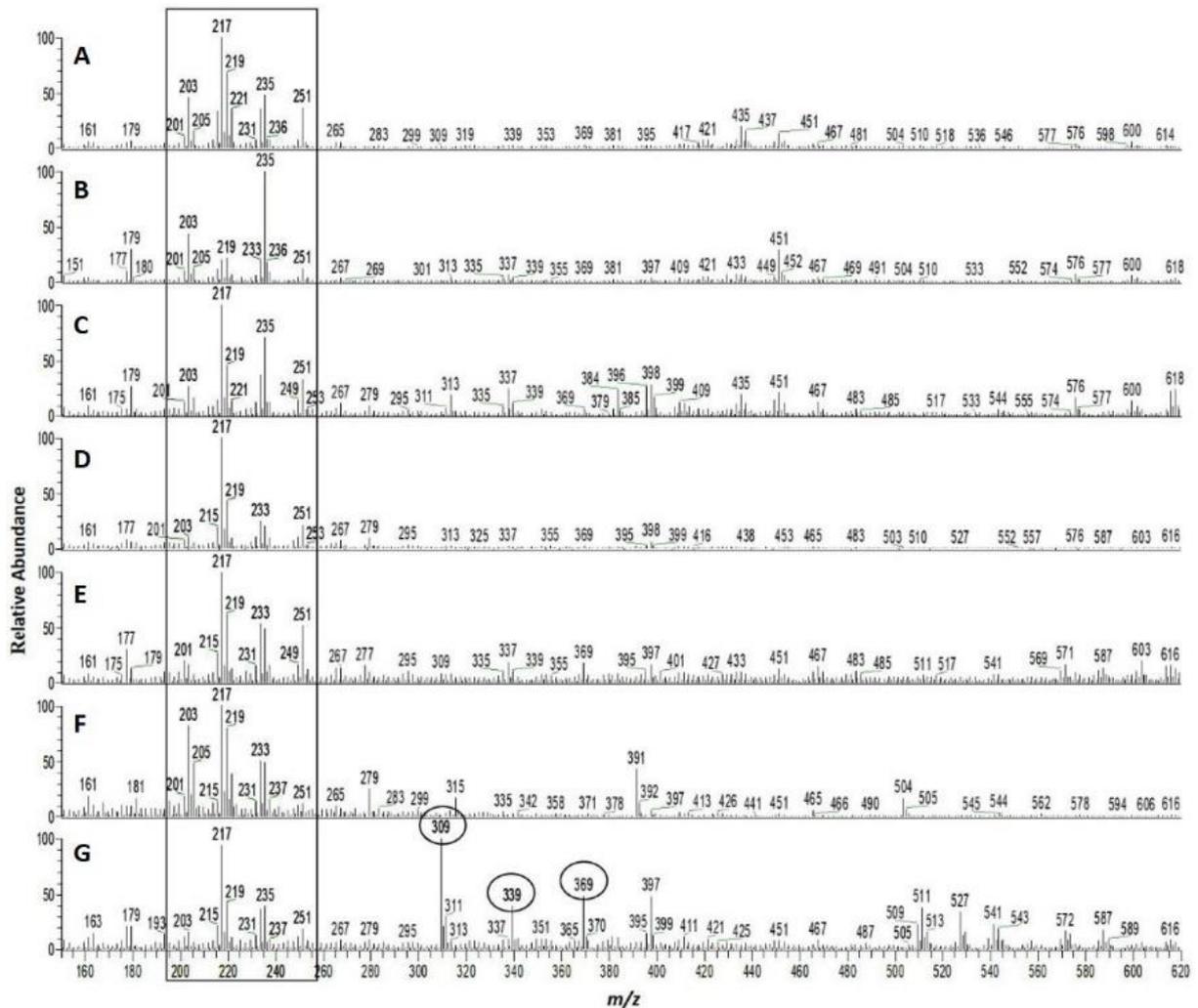


Figure 2. Perfil espectrométrico por ionização a pressão atmosférica acoplado a espectrometria de massas (APCI-MS) mostrando os íons no modo positivo $[M+H]^+$ para as frações de *Curcuma longa* envolvidas na inibição do crescimento micelial em placas de cultura de células. **A)** FH-2, **B)** FH-3, **C)** FH-4, **D)** FH-5, **E)** FH6, **F)** FAE-2 e **G)** FAE-3. A caixa retangular mostra a abundância relativa dos íons com m/z 217 e o círculo mostra a abundância relativa dos íons com m/z em 369 $[M+H]^+$, 339 $[M+H]^+$ e 309 $[M+H]^+$ correspondendo aos copostos, curcumina, demetoxicurcumina e bisdemetoxicurcumina.

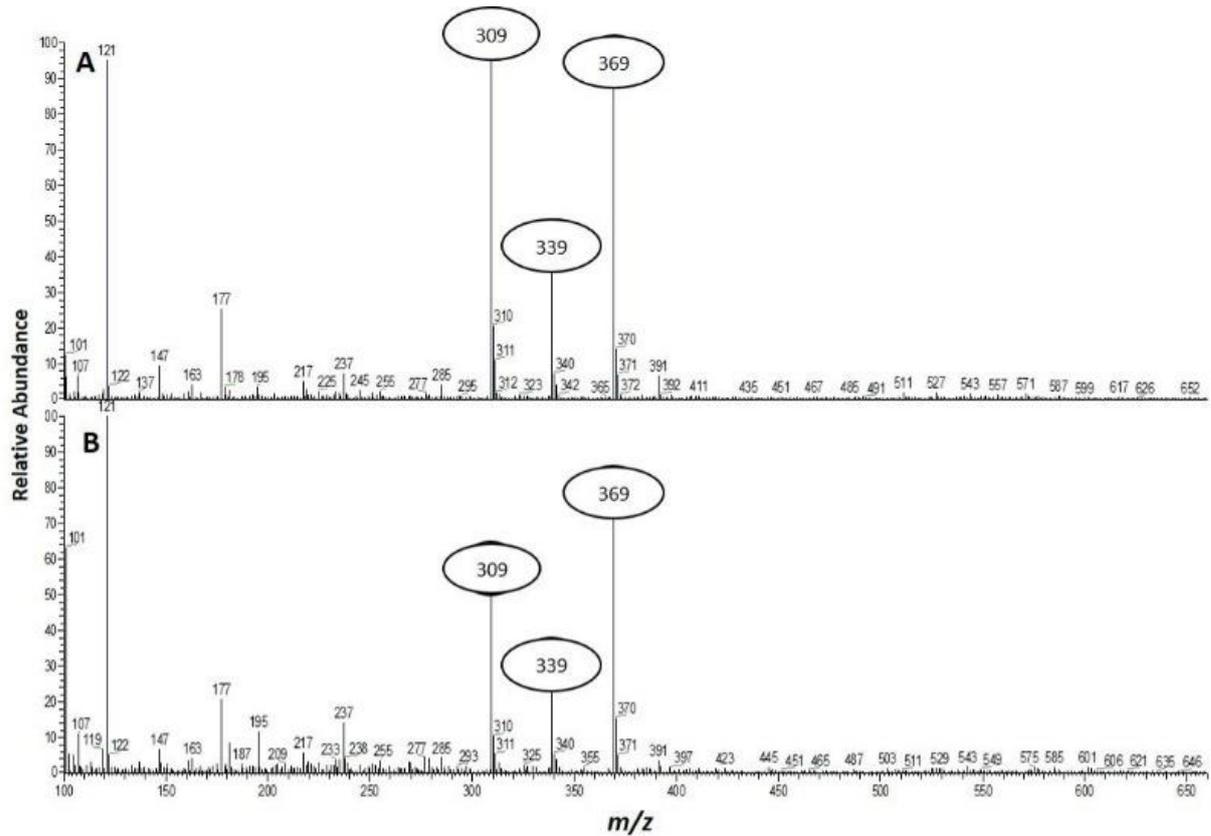


Figure 3. Perfil espectrométrico por ionização a pressão atmosférica acoplado a espectrometria de massas (APCI-MS) no modo positivo $[M+H]^+$ para as frações não envolvidas na inibição do crescimento micelial no teste em placas de células. **A)** FAE-5 e **B)** FAE-6. Os círculos representam a massa carga (m/z) de três curcuminóides. m/z 369 $[M+H]^+$ curcumina, m/z 339 $[M+H]^+$ demetoxicurcumina e m/z 309 $[M+H]^+$ bisdemetoxicurcumina.

13.4 Cromatograma das FAE e FH de *Cur. longa*

A análise dos cromatogramas por CG-EM mostrou uma mistura de componentes (A-F) (Figura 4), e somente dois componentes maioritários foram identificados através dos índices de retenção calculados com os da literatura (ADAMS, 2007), ar-turmerona (Figura 4 A e F) com tempo de retenção (TR) 35,71 e abundância relativa de 30,57% (A) e 48,71% (F) e o segundo componente ar-turmerol (Figura 4 B) com TR 33,26 e abundancia relativa de 11,51%. Os demais componentes observados nos cromatogramas não foram identificados.

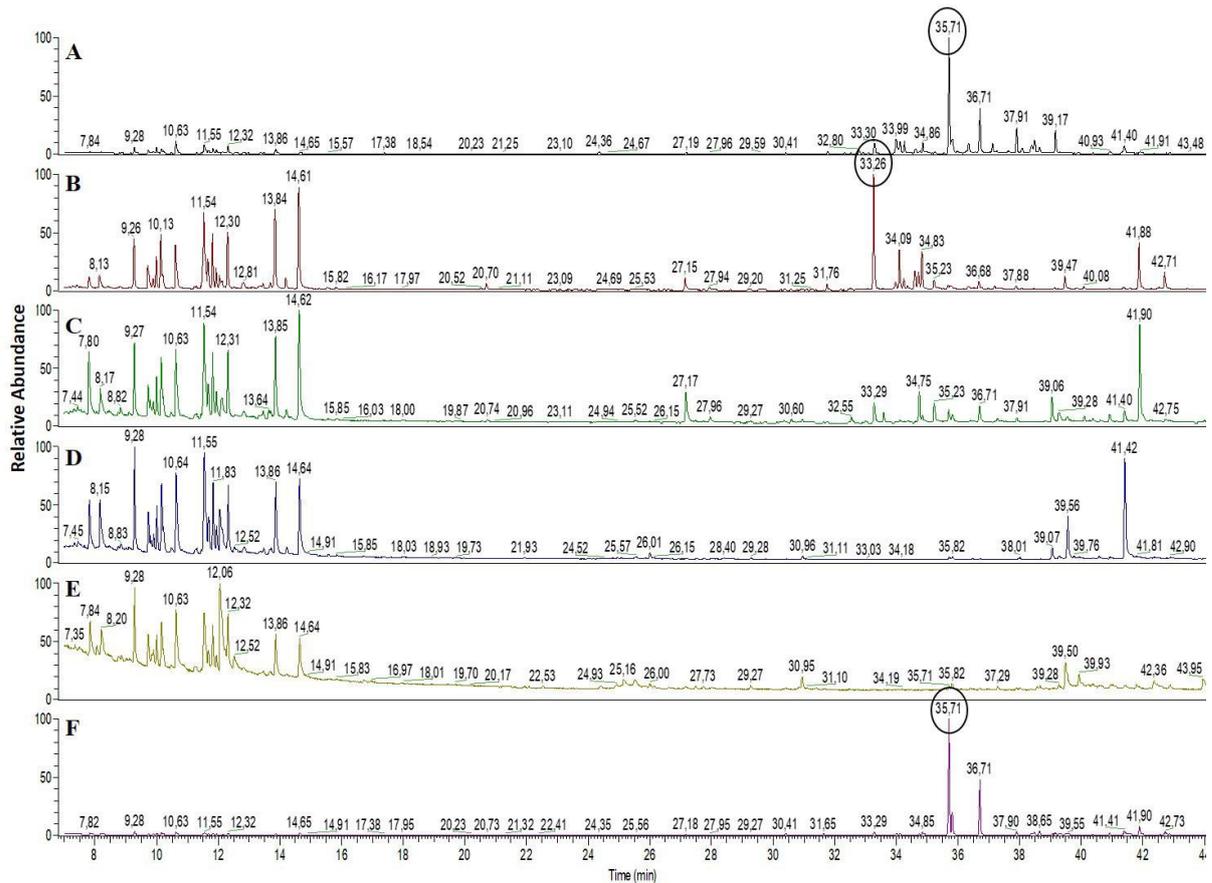


Figure 4. Cromatograma das frações hexânica e aceto de etila. **A)** FH-2, **B)** FH-3, **C)** FH-4, **D)** FH-5, **E)** FH6, **F)** FAE-2. Os círculos mostram o tempo de retenção dos compostos identificados ar-turmerona (35,71) e ar-turmerol (33,26).

13.5 Controle da antracnose

A incidência da antracnose nos frutos que receberam tratamento preventivo com a FH de *C. longa* nas concentrações de 3 e 5 mg.mL⁻¹ foi de 33,3% e 23,8%, inferior ao do tratamento controle negativo com 71,4% de incidência (Tabela 3).

Tabela 3 - Efeito das concentrações da Fração Hexânica (FH) de *Curcuma longa* na incidência da antracnose, agente causal *Colletotrichum* sp., em frutos de pimenta-de-cheiro, inoculados com conídios na concentração de 10⁵ conídios.mL⁻¹.

Tratamento	Concentração da FH mg.mL ⁻¹	Incidência (%)
Controle (0)	0	0
Controle (-)	0	71,4
FH	5	23,8
FH	3	33,3

Controle (0) = inoculação sem patógeno; controle (-) = inoculação só com patógeno

14 DISCUSSÃO

Pesquisas relatam que extratos fracionados são avaliados para o controle do desenvolvimento de fitopatógenos, resultando na inibição do crescimento micelial total ou parcialmente de diversas espécies de fitopatógenos. Chen et al. (2018) observaram que o extrato etanólico de *C. longa* na concentração de 0,5 mg.mL⁻¹, inibiu 63,8%, 41,2% e 34,5% o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos *Fusarium graminearum*, *F. oxysporum* e *Colletotrichum higginsianum*. Mâcedo et al. (2018) observaram que os extratos etanólicos de *P. marginatum* inibiram o crescimento micelial do fitopatógeno *Colletotrichum musae* em 10,9% e 20,2%, usando as concentrações de 40% e 50%. Dorneles et al. (2018) observaram que o extrato de *C. longa* inibiu 60% do crescimento micelial e 83,34% da esporulação do *Bipolaris oryzae* causador da mancha-parda em plantas de arroz. Neste trabalho, os extratos fracionados de *C. longa*, FH e FAE, mostraram a maior porcentagem de inibição do crescimento micelial e da inibição da germinação dos conídios (Tabela 1 e 2), e foram selecionados e subfracionados em cromatografia a vácuo obtendo-se as FH-2, FH-3, FH-4, FH-5, FH-6, FAE-2 e FAE-3, que inibiram o crescimento micelial do *Colletotrichum* sp. (Figura 1), e os compostos ar-turmerona com abundância relativa de 30,57% e 48,71% na FH-2 e FAE-2 e ar-turmerol com abundância relativa de 11,51% na FH-3 foram identificados (Figura 4), porém os demais componentes majoritários presente nas frações FH-2, FH-3, FH-4, FH-5, FH-6, FAE-2 não foram identificados. Porém o perfil cromatográfico das FH-2 e FAE-2 foram semelhantes ao perfil cromatográfico observados por Ferreira et al. (2013) que identificaram três compostos, além do composto ar-turmerona foram identificados os compostos α -turmerona e β -turmerona.

Pesquisas relatam que os compostos ar-turmerona e ar-turmerol são moléculas presentes nos óleos essenciais de *C. longa* são amplamente conhecidas por apresentarem atividade antifúngica contra fitopatógenos como *Fusarium solani* (AKTER et al., 2019), *A. flavus* (HU et al., 2017; Ferreira et al., 2013), *F. graminearum* (KUMAR et al., 2016). Os compostos bioativos presentes em *C. longa* tem o potencial de atravessar ou acumular-se na membrana citoplasmática, retículo endoplasmático e membranas mitocondriais, provocando a ruptura e vazamento de conteúdo citoplasmático e conseqüentemente inibição do desenvolvimento fúngico (HU et al., 2017; INGÓLFSSON et al., 2014). Avanço et al. (2017) relataram os compostos ar-turmerona (12,9%), α -turmerona (42,6%), β -turmerona (16%) no óleo essencial de *C. longa*, inibindo 79,3% do crescimento micelial de *Fusarium verticillioides*, na concentração de 294,9 μ g.mL⁻¹, e os conídios observados em microscopia eletrônica de varredura, mostraram perda da integridade da membrana e diminuição da rigidez da parede

celular. Foram determinadas as CIM das frações FH-2, FH-3, FH-4 e FH-5 obtendo-se valores de 500, 250, 500 e 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, inibindo o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. Chen et al. (2018) observaram que a concentração inibitória (CE) em *Colletotrichum higginsianum* e *F. oxysporum* foi de 5 e 3 mg.mL^{-1} de extratos etanolicos de *C. longa*. Kumar et al. (2016) observaram que o CIM em *Fusarium graminearum* foi de 2200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, e de 73,7 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ para *F. verticillioides* usando óleo essencial de *C. longa* (AVANÇO et al., 2017).

Os extratos fracionados avaliados para o controle de *Colletotrichum* sp. apresentam potencial para o controle do fitopatógeno em condições *in vitro*, com destaque para o extrato fracionado de *C. longa* FH, que apresentou os melhores resultados na inibição do crescimento micelial e inibição da germinação dos conídios. É provável que a presença dos compostos ar-turmerona e ar-turmerol desempenhem papel importante juntamente aos outros compostos não identificados, e que possivelmente estejam interagindo para inibir o desenvolvimento de *Colletotrichum* sp. Os resultados mostram que o uso dos extratos fracionados poderiam ser utilizados como uma opção econômica e ecologicamente viável para os agricultores, ou como compostos com interesse biotecnológicos para desenvolvimentos de compostos antifúngicas.

O efeito preventivo da FH de *C. longa* nas concentrações de 3 e 5 mg.mL^{-1} reduziu a incidência da doença em 33,8% e 23,8%, se comparado ao tratamento controle inoculado só com patógeno, com incidência da doença de 71,4%. É provável que os compostos ar-turmerona e ar turmerol identificados no extrato fracionado de *C. longa* FH (Figura 4) tenha efeito direto em inibir a germinação dos conídios impedindo a penetração em frutos de pimenta-de-cheiro, este fato pode ser confirmado pela inibição da germinação dos conídios e do crescimento micelial de *Colletotrichum* sp em placas celulares (Tabela 1 e Figura 1). Pesquisas relatam que o uso de extratos vegetais de *C. longa* e de outras espécies de plantas reduzem a incidência e severidade das doenças fitopatogênicas em culturas agrícolas ou podem promover indução de resistência. Bordoh *et al.*, (2020) observaram que o extrato metanólico (70%) de *C. longa* na concentração de 10 g.L^{-1} inibiu 20% da incidência da antracnose em frutos de pitaya (*Hylocereus undatus*) causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, se comparado ao tratamento controle, com 100% de incidência. Mamarabadi, Tanhaeian e Ramezany (2018), observaram que o extrato de *C. longa* na concentração de 50 mg.mL^{-1} reduziu em 40% a severidade da doença pinta-preta do tomateiro, que tem como agente causal *Alternaria tenuissima*. Alsahli et al. (2108), relatam que o tratamento das sementes de girassol com extrato de *C. longa* a 10%, reduziu a incidência em 37,3% e severidade em 23,1% da podridão da raiz, causada por *Fusarium solani*, se comparado ao tratamento que só foi inoculado com o patógeno, que

apresentou incidência de 55,4% e severidade de 44,3%, além disso, o extrato induziu resistência, observando-se a síntese de proteínas relacionadas a defesa como, quitinase e defensina. Mais estudos devem ser realizados para elucidar se a redução da incidência da doença em frutos de pimenta-de-cheiro é devido a presença dos compostos, ar-turmerona, ar-turmerol e aos compostos não identificados ou se é a soma do controle direto dos compostos sobre o patógeno somado a indução de resistência ativado pela aplicação do extrato no fruto.

Como descrito nos testes *in vitro*, os compostos presentes nos extratos da FH, ar-turmerona e ar-turmerol, são relatados como compostos majoritários dos óleos essenciais e para obtê-los é mais viável através da extração dos óleos essenciais de *C. longa*. O óleo essencial de *C. longa* é conhecido como aditivo alimentar, utilizado para conferir sabor e tem efeito antioxidante e micotoxigênica para preservação de alimentos (HU et al., 2017), sugerindo-se que uma maneira mais adequada para o controle da antracnose poderia ser através do uso do óleo, que não irá prejudicar a saúde do agricultor nem dos consumidores, por tratar-se de um produto consumível e reconhecido pela *Food and Drug Administration* (FDA, 2018), como produto seguro para o consumo, ao invés do uso de extratos fracionados como o utilizado neste trabalho, que não seria recomendável se comparado a extração do óleo essencial por hidrodestilação, uma metodologia mais limpa e com menor custo para a obtenção dos mesmos compostos extraídas com os solventes orgânicos.

15 CONCLUSÃO

Os extratos fracionados de *Croton cajucara* FAE e FH e os extratos de *Curcuma longa* FM, FAE e FH inibiram o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp., destacando a FH de *Curcuma longa* que apresenta potencial antifúngico em baixas concentrações, como os observados para CIM. Os compostos ar-turmerona e ar-turmerol foram os compostos identificados na fração hexânica de *C. longa*. A fração hexânica de *C. longa* nas concentrações avaliadas reduziu a incidência da antracnose em pimenta-de-cheiro. Os extratos de plantas têm potencial antifúngico contra o *Colletotrichum* sp., agente causal da antracnose em pimenta de cheiro, e testes em condições de campo devem ser realizados para avaliar o efeito do extrato de *C. longa* como opção aos fungicidas.

16 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gás chromatography/quadrupole mass spectroscopy, Allured, Card Stream IL, 2007.

AKTER, J.; ISLAM, M.Z.; TAKARA, K.; HOSSAIN, M.A.; SANO, A. (2019). Isolation and structural elucidation of antifungal compounds from Ryudai gold (*Curcuma longa*) against *Fusarium solani* sensu lato isolated from American manatee. **Comparative Biochemistry and Physiology** v.219, p. 87-94.

ALMEIDA, L.B.; MATOS, K.S.; ASSIS, L.A.G.; HANADA, R.E. 2017. First report of anthracnose of *Capsicum chinense* in Brazil Caused by *Colletotrichum brevisporum*. **Plant Disease**, v.101, n.6, p. 1035.

ALSAHLI, A.A.; ALARAIHDH, I.A.; RASHAD, Y.M RAZIK, E.S.A. Extract from *Curcuma longa* L. triggers the sunflower imune system and induces defence-related genes against *Fusarium* root rot. **Phytopathologia Mediterranea**, v.57, n.1, p. 26-36, 2018.

ARAÚJO, E.R.; HARAND, W.; LIMA, I.C.; DIAS, F.C.R.; SANTANA, A.A.D.; CARVALHO, R.R.C. DELSON LARANJEIRA, D. Extratos de *Piper marginatum* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum scovillei* em pimentão. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.49, n.2, p. 88-94, 2014.

AVANÇO, G.B.; FERREIRA, F.D.; BOMFIM, N.S.; SANTOS, P.A.S.R.; PERALTA, R.M.; BRUGNARI, T.; MALLMANN, C.A.; ABREU FILHO, B.A.; MIKCHA, J.M.G.; MACHINSKI JUNIOR, M. 2017. *Curcuma longa* L. essential oil composition, antioxidant effect, and effect on *Fusarium verticillioides* and fumonisin production. **Food Control** v.73, p. 806-813, 2017.

AZEVEDO, M.M.B.; CHAVES, F.C.M.; ALMEIDA, C.A.; BIZZO, H.R.; DUARTE, R.S.; TAKAKI, G.M.C.; ALVIANO, C.S.; ALVIANO, D.N. Antioxidant and antimicrobial activities of 7-Hydroxycalamenene-rich essential oils from *Croton cajucara* Benth. **Molecules**, v.18, p. 1128-1137, 2013.

AZEVEDO, M.M.B.; ALMEIDA, C.A.; CHAVES, F.C.M.; RODRIGUES, I.A.; BIZZO, H.R.; ALVIANO, C.S.; ALVIANO, D.S. 7-hydroxycalamenene effects on secreted aspartic proteases activity and biofilm formation of *Candida* spp. **Phcog Mag**, v.12, p. 36-40. 2016.

AZEVEDO, M.M.B.; ALMEIDA, C.A.; CHAVES, F.C.M.; TAKAKI, G.M.C.; ROZENTAL, S.; BIZZO, H.R.; ALVIANO, C.S.; ALVIANO, D.S. Effects of 7-hydroxycalamenene isolated from *Croton cajucara* essential oil on growth, lipid content and ultrastructural aspects of *Rhizopus oryzae*. **Plant medicinal** v.80, p. 550-556, 2014.

BORDOH, P.K.; ALIA, A.; DICKINSON, M.; SIDDIQUI, Y. Antimicrobial effect of rhizome and medicinal herb extract in controlling postharvest anthracnose of dragon fruit and their possible phytotoxicity. **Scientia Horticulturae**, v.265, p. 1-11, 2020.

BRÚ, J.; GUZMAN, J.D. Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of *Piper marginatum*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.26, p. 767-779, 2016.

CARDOSO, A.A.S.; SANTOS, J.Z.L.; TUCCI, C.A.F.; BARBOSA, T.M.B. Acúmulo de nutrientes e crescimento da pimenta-de-cheiro em função de doses de calcário. **Revista Agro@mbiente On-line**, v. 8, n. 2, p. 165-174, 2014.

CHAVES, A.A.C.; FURTADO, S.C. Análise físico-química da pimenta de cheiro mantida em temperatura ambiente. **Nutrição Brasil**, v.16, n.4, p. 194-203, 2017.

- CHEN, J.; JIANG, Q.D.; CHAI, Y.P.; ZHANG, H.; PENG, P.; YANG, X.X. Natural terpenes as penetration enhancers for transdermal drug delivery. **Molecules**, v.21, n.1709, p.2-22, 2016.
- CHEN, C.; LONG, L.; ZHANG, F.; CHEN, Q.; CHEN, C.; YU, X.; LIU, Q.; BAO, J.; LONG, Z. Antifungal activity, main active components and mechanism of *Curcuma longa* extract against *Fusarium graminearum*. **Plos One**, v.13, n.3, e0194284, 2018
- DORNELES, K.R., PAZDIORA, P.C., SILVA, F.J.A., MOCCELLIN, R., & FARIAS. C.R.J. Control of *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) using *Curcuma longa* (Linnaeus) extract and effect of this extract on rice seed physiology. **Revista Caatinga**, v.31. n.1, p. 99-105, 2018.
- DOOL, H.; KRATZ, P. D. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas - liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography**, v.11, p. 463-471, 1963.
- ELYOUSR, K.A.M.A.; ALMASOUDI, N.M.; ABDELMAGID, A.W.M.; ROBERTO, S.R.; YOUSSEF, K. Plant extract treatments induce resistance to bacterial spot by tomato plants for a sustainable system. **Horticulturae**, v.6, n.36, p. 1-12, 2020.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. (FAD), disponível em: (<https://www.fda.gov/media/132575/download>. Acesso em 28 maio. 2021.
- FERREIRA (a), F.D.; MOSSINI, S.A.G.; FERREIRA, F.M.D.; ARROTÉIA, C.C.; COSTA, C.L.; NAKAMURA, C.V.; MACHINSKI JR, M.M. The inhibitory effects of *Curcuma longa* L. essential oil and curcumin on *Aspergillus flavus* Link growth and morphology. **The Scientific World Journal**, p. 1-6, 2013.
- Fungicide Resistance Action Committee. Pathogen. (FRAC), Risk List. Disponível em: (<https://www.frac.info/docs/default-source/publications/pathogen-risk/frac-pathogen-list-2019.pdf>). Acesso em 30 maio. 2021.
- GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R.; BERNI, R.F. 2014. *A antracnose da pimenta-de-cheiro*. (Comunicado Técnico 104/2014), Manaus, AM, Embrapa Amazônia Ocidental
- GUERINO, R.S.; LIMA JUNIOR, J.A.; SILVA, A.L.P.; OLIVEIRA, P.D.; MARTINS, I.C.F.; BRITO NETO, J.F.; AVIZ, W.L.C. Productive viability of sweet pepper (*Capsicum chinense* [J.] cv. Lupita) using water management with different soil water tensions. **Australian Journal of Crop Science**, v.11, n.12, p. 1651-1656, 2017.
- GUL, P.; BAKHT, J. Antimicrobial activity of turmeric extract and its potential use in food industry. **Journal of Food Science and Technology**, v.52, n.4, p. 2272-2279, 2015.
- HANADA, R.E.; GASPAROTTO, L.; PEREIRA, J.C.R.; ASSIS, L.A.G. Ocorrência de *Colletotrichum* sp. em pimenta de cheiro (*Capsicum chinense*) no Amazonas. **Tropical Plant Pathology**, v. 36, p. 0795, 2011, suplemento. XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia - Bento Gonçalves RS.
- HU, Z.; HE, B.; MA, L.; SUN, Y.; NIU, Y.; ZENG, B. Recent advances in ergosterol biosynthesis and regulation mechanisms in *Saccharomyces cerevisiae*. **Indian Journal Microbiol**, v.57, n.3, p. 270-277, 2017.
- INGÓLFSSON, H.I.; THAKUR, P.; HEROLD, K.F.; HOBART, E.A.; RAMSEY, N.B.; PERIOLE, X.; JONG, D.H.; ZWAMA, M.; YILMAZ, D.; HALL, K.; MARETZKY, T.; HEMMINGS, H.C.; BLOBEL, C.; MARRINK, S.J.; KOÇER, A.; SACK, J.T.; ANDERSEN, O.S. Phytochemicals perturb membranes and promiscuously alter protein function. **ACS Chemical Biology**, v.9, n.8, p. 1788-1798, 2014.

Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável Do Estado Do Amazonas (2019). Recuperado em 20 de janeiro, 2021 de <http://www.idam.am.gov.br/wp-content/uploads/2020/07/RAT-Produ%C3%A7%C3%A3o-Vegetal-4%C2%BA-Trim-2019.pdf>. Acesso em 30 mar. 2021

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (IBGE), 2017. Tabela (www.sidra.ibge.gov.br/tabela/6619). Acesso em 25 mar. 2021.

KIM, J.T.; LEE, K.H.; MIN, J.Y.; KANG, B.K.; RHO, C.W.; HONG, S.T.; KIM, H.T. Response of *Colletotrichum* sp. Causing red pepper anthracnose to protective and ergosterol biosynthesis-inhibiting fungicides. **Research in Plant Disease**, v.11, n.2, p. 185-192, 2005.

KUMAR, K.N.; VENKATARAMANA, M.; ALLEN, J.A.; CHANDRANAYAKA, S.; MURALI, H.S.; BATRA, H.V.; Role of *Curcuma longa* L. essential oil in controlling the growth and zearalenone production of *Fusarium graminearum*. **LWT-Food Science and Technology**, v.69, p. 1-7, 2016.

LIMA, G.S.; CASTRO-PINTO, D.B.; MACHADO, G.C.; MACIEL, M.A.M.; ECHEVARRIA, A. Antileishmanial activity and trypanothione reductase effects of terpenes from the Amazonian species *Croton cajucara* Benth (Euphorbiaceae). **Phytomedicine**, v.22, n.12, p. 1133-1137, 2015.

MACÊDO, C.G.; SOUSA, B.C.M.; FRAGA, S.S.; LOURIDO, K.A.; LUSTOSA, D.C.; SILVA, E.O.; CASTRO, K.C.F. Fitoquímica e atividade antifúngica do extrato de folhas de *Piper marginatum* no controle de fitopatógenos. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v.9, n.6, p.70-77, 2018.

MACIEL, M. A. M.; ANJOS, G. C.; GOMES, F. E. S.; DANTAS, T. N. C.; PINTO, A. C.; KAISER, C. R.; MIRANDA, A. F.; ECHEVARRIA, A. Estudo fitoquímico de folhas de *Croton cajucara* Benth e determinação da sua propriedade antioxidante. **Revista Fitos**, v.4, n.2, p. 71-89, 2009.

MAMARABADI, M.; TANHAEIAN, A.; RAMEZANY, Y. Antifungal activity of recombinant thanatin in comparison with two plant extracts and a chemical mixture to control fungal plant pathogens. **AMB Express**, v.8, n.180, p. 1-12, 2018.

MOREIRA, A.; TEIXEIRA, P.C.; ZANINETTI, R.A.; JUNIOR, C.G.P. **Fertilizantes e Corretivo da Acidez do Solo em Pimenta-deCheiro (*Capsicum chinense*) Cultivada no Estado do Amazonas**. (1ª Aproximação) Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental, 2010. 18 p.

MOSES, M.; UMAHARAN, P.; DAYANANDAN, S. Microsatellite based analysis of the genetic structure and diversity of *Capsicum chinense* in the Neotropics. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 61, n. 4, p. 741-755, 2014.

NASCIMENTO, A.M., FERREIRAC, D.M., SOUZA, E.F.J., SOUZAA, L.M., SASSAKI, G.L., IACOMINI, M., WERNER, M.F.P., & CIPRIANI, T.R. Gastroprotective effect and chemical characterization of a polysaccharide fraction from leaves of *Croton cajucara*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.95, p. 153-159, 2016.

NELSON, K.M.; DAHLIN, J.L.; BISSON, J.; GRAHAM, J.; PAULI, G.F.; WALTERS, M.A. The essential medicinal chemistry of curcumin. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.60, n.5, p. 1620-1637, 2017.

OLIVEIRA, C.V.S.; MATOS, K.S.; ALBUQUERQUE, D.M.C.; HANADA, R.E.; SILVA, G.F. Identification of *Colletotrichum* isolates from *Capsicum chinense* in Amazon. **Genetics and Molecular Research**, v.16, n.2, p. 1-10, 2017.

Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (2018). Disponível em: www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize. Acesso em: 20 de junho de 2020.

PAGANO, E.; ROMANO, B.; IZZO, A.A.; BORRELLI, F. The clinical efficacy of curcumin-containing nutraceuticals: An overview of systematic reviews. **Pharmacological Research**, v.134, p. 79-91, 2018.

PANGALLO, S.; NICOSIA, M.G.L.D.; AGOSTEO, G.E.; ABDELFATTAH, A.; ROMEO, F.V.; CACCIOLA, S.O.; RAPISARDA, P.; SCHENA, L. Evaluation of a pomegranate peel extract as an alternative means to control olive anthracnose. **Phytopathology**, v.107, n.12, p. 1462-1467, 2017.

PARAMITA, N.R.; SUMARDIYONO, C.; SUDARMADI. Chemical control and resistance of *Colletotrichum* spp. against cymoxanil fungicide on red pepper. **Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia**, v.18, n.1, p. 41-46, 2014.

RAMDIAL, H.; HOSEIN, F.N.; RAMPERSAD, S.N. Detection and Molecular Characterization of Benzimidazole Resistance Among *Colletotrichum truncatum* Isolates Infecting Bell Pepper in Trinidad. **The American Phytopathological Society**, v.100, n.6, p. 1146-1152, 2016.

RAMÍREZ, P.G.; RAMÍRE, D.G.; MEJÍA, E.Z.; OCAMPO, S.A.; DÍAZ, C.A.; MARTÍNEZ, R.I.R. Extracts of *Stevia rebaudiana* against *Fusarium oxysporum* associated with tomato cultivation. **Scientia Horticulturae**, v.259, n.3, p. 1-6, 2020

ROSSATO, M; SANTIAGO, T.R.; LOPES, C.A. 2018. Reaction of *Capsicum* peppers commercialized in the Federal District to bacterial wilt. **Horticultura Brasileira** v.36, p. 173-177, 2018.

RStudio (2020). Desenvolvimento integrado para R. RStudio, (Versão 4.0.2). [Software estatístico] PBC, Boston, MA. Recuperado de <http://www.rstudio.com/>

SILVA, A.M.; BENTES, J.L.S.; BEZERRA, E.J.S.; ANDRADE, M.C. Diversidade morfológica, genética e patogenicidade de *Colletotrichum* spp. associados à pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.). **Revista Agrária Acadêmica**, v.1, n.4, p. 39-51, 2018.

SOUZA, L.C.S.; HANADA, R.E.; ASSIS, L.A.G.; CAMELO-GARCÍA, V.M.; REZENDE, J.A.M.; YUKI, V.A.; KITAJIMA, E.W. Occurrence of pepper yellow mosaic virus and cucumber mosaic virus on *Capsicum chinense* in the state of Amazonas, Brazil. **Acta Amazonica**, v.50, n.1, p. 5-7, 2020.

SUN, Y.; WANG, Y.; HAN, L.R.; ZHANG, X.; FENG, J.T. 2017. Antifungal Activity and Action Mode of Cumenic Acid from the Seeds of *Cuminum cyminum* L. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Niveum* (FON) Causing *Fusarium* Wilt on Watermelon. **Molecules**, v.22, p. 1-13, 2017.

TIAN, S.; LIAO, L.; ZHOU, Q.; HUANG, X.; ZHENG, P.; GUO, Y.; DENG, T.; TIAN, X. Curcumin inhibits the growth of liver cancer by impairing myeloid-derived suppressor cells in murine tumor tissues. **Oncology Letters**, v.21, n.286, p. 1-10, 2021.

WANG, Y.; ZHANG, J.; SUN, Y.; FENG, J.; ZHANG, X. Evaluating the potential value of natural product cuminic acid against plant pathogenic fungi in cucumber. **Molecule**, v.22, p. 1-22, 2017.

Wheeler, B.E.J.(1969). *An Introduction of Plant Diseases*. London, United Kingdom.