

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

**EXTRATOS DE *Acanthospermum hispidum* E *Lippia alba* NO
CONTROLE DE *Alternaria solani* E NA INDUÇÃO DE
RESISTÊNCIA EM TOMATEIRO**

ADRIANA DE OLIVEIRA NEVES

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

JULHO - 2018

**EXTRATOS DE *Acanthospermum hispidum* E *Lippia alba* NO
CONTROLE DE *Alternaria solani* E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA
EM TOMATEIRO**

ADRIANA DE OLIVEIRA NEVES

Engenheira Agrônoma

Universidade Federal da Bahia, 2015

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

Orientador: Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança

Coorientadora: Profa. Dra. Franceli da Silva

CRUZ DAS ALMAS - BAHIA

JULHO - 2018

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

**EXTRATOS DE *Acanthospermum hispidum* E *Lippia alba* NO
CONTROLE DE *Alternaria solani* E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA
EM TOMATEIRO**

**COMISSÃO EXAMINADORA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
ADRIANA DE OLIVEIRA NEVES**

Realizada em 04 de Julho de 2018

Prof. Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinador Interno (Orientador)

Profa. Dra. Cintia Armond
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Examinadora Interna

Profa. Dra. Thaís Emanuelle Feijó de Lima
Universidade Estadual da Bahia - UNEB
Examinadora Externa

DEDICATÓRIA

A quem está sempre ao meu lado me protegendo, dando força e cumprindo suas promessas em minha vida acima de qualquer coisa... á ti ó Deus dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela sua bondade, fidelidade e grandeza. Pois sempre me surpreende com seu amor, me mostrando que tudo o que tem para mim é muito maior do que eu possa imaginar.

A minha família, pelo amor, pela amizade e companhia. Pois é ela que me motiva e renova a minha força e esperança.

A universidade Federal do Recôncavo da Bahia juntamente com programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias pela oportunidade.

A CAPES, pela concessão da bolsa de estudo.

Ao professor Carlos Dórea, pelos ensinamentos, orientações e acolhimento.

A professora Franceli da Silva, por ter colocado o Laboratório de Fitoquímica a minha disposição.

Aos amigos da Clínica de Fitossanitária em especial Carol Yamamoto, Daniel Invenção e Juliana Ramos pela amizade, conversas e trocas de experiências.

Ao professor Tales Miler por ter cedido o espaço para parte do experimento.

A Primus Informática pelo empréstimo do computador, sem o qual não teria finalizado este trabalho.

Em fim a todos que de forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento desse trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	
ABSTRACT	
REFERENCIAL TEÓRICO	1
ARTIGO 1	
EXTRATOS DE <i>Acanthospermum hispidum</i> E <i>Lippia alba</i> NO CONTROLE <i>IN VITRO</i> DE <i>Alternaria solani</i>	24
ARTIGO 2	
EXTRATOS DE <i>Acanthospermum hispidum</i> E <i>Lippia alba</i> NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM TOMATEIRO.....	43
CONSIDERAÇÕES FINAIS	56

EXTRATOS DE *Acanthospermum hispidum* E *Lippia alba* NO CONTROLE DE *Alternaria solani* E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM TOMATEIRO

Autora: Adriana de Oliveira Neves

Orientador: Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança

RESUMO: A pinta preta é uma doença de grande importância na cultura do tomateiro. Causada pelo fungo *Alternaria solani*, é altamente destrutiva e de ampla ocorrência nas regiões tropicais. Pode atacar todas partes da planta gerando grandes prejuízos, comprometendo até 100% da produção. O principal método de controle adotado é químico, entretanto muitos questionamentos têm sido levantados em relação aos aspectos negativos que tal método pode trazer ao meio ambiente, em relação à segurança alimentar e pela capacidade deste em selecionar patógenos resistentes. Métodos alternativos estão sendo estudados visando reduzir a utilização desses produtos. Assim este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de extratos vegetais de *Acanthospermum hispidum* e *Lippia alba* no controle de *Alternaria solani* e na indução de resistência em tomateiro. As concentrações dos extratos vegetais estudadas foram de 1, 5, 10,15 e 20 %. Foram avaliados controle *in vitro* do crescimento micelial e percentual de germinação de esporos e indução de resistência *in vivo*. O extrato de *A. hispidum* promoveu até 44,4 % de redução no crescimento micelial e 68% de germinação. O extrato de *L. alba* reduziu o crescimento micelial até 80,5% e 71,5% da germinação. Os extratos foram capazes de promover indução de resistência, ocorrendo indução de forma sistêmica. Ambos os extratos se mostraram potenciais alternativas no controle da pinta preta do tomateiro.

Palavras-chave: Pinta-preta, carrapicho de carneiro, erva-cidreira, severidade.

EXTRACTS OF *Acanthospermum hispidum* AND *Lippia alba* IN THE CONTROL OF *Alternaria solani* AND IN THE INDUCTION OF RESISTANCE IN TOMATO

Author: Adriana de Oliveira Neves

Adviser: Dr. Carlos Augusto Dórea Bragança

ABSTRACT: The early blight is a disease of great importance in the tomato crop. Caused by the fungus *Alternaria solani*, it is highly destructive and widely occurring in tropical regions. It can attack all parts of the plant, causing great losses, compromising up to 100% of production. The main method of control adopted is the chemical, however many questions have been raised regarding the negative aspects that such method can bring to the environment, in relation to food safety and its ability to select resistant pathogens. Alternative methods are being studied to reduce the use of these products. The objective of this work was to evaluate the potential of plant extracts of *Acanthospermum hispidum* and *Lippia alba* in the control of *Alternaria solani* and induction of resistance in tomato. The extracts concentrations studied were 1, 5, 10, 15 and 20%. In vitro control of mycelial growth and percentage of spore germination and resistance induction in vivo were evaluated. The extract of *A. hispidum* promoted up to 44.4% reduction in mycelial growth and 68% of germination. The extract of *L. alba* reduced the mycelial growth until 80.5% and 71.5% of the germination. The extracts were able to induce resistance induction, and this induction also occurred systemically. Both extracts showed potential alternative in the control of the black pint of tomato.

Key words: Black paint, sheep's burrow, lemongrass, severity.

REFERENCIAL TEÓRICO

A cultura do tomateiro

Originário do Sul da América e domesticado no México, o tomateiro (*Solanum lycopersicum L.*) pertence à família das solanáceas e é uma das hortaliças de frutos mais consumida em todo o mundo. Seus frutos são utilizados no consumo *in natura* ou em forma de produtos industrializados. O alto consumo está relacionado ao seu valor nutricional, seus componentes antioxidantes e por ser um alimento de preço acessível (CARVALHO; PAGLIUCA, 2007).

O tomate é rico em substâncias, algumas com propriedades funcionais e potencial no tratamento e prevenção de doenças, fatos que o coloca como alvo de vários estudos (ELLINGER et al., 2006; GRAINGER, et al., 2008; TALVAS, J. et al., 2010). O carotenoide licopeno presente no tomate é um dos mais expressivos antioxidantes provenientes de dietas. Seu consumo vem sendo associado a uma menor vulnerabilidade a doenças crônicas, também sendo evidenciado como promotor de redução no aparecimento de câncer de próstata (SOARES; FARIAS, 2012). Além disso, estudos apontam o potencial do licopeno na proteção das células normais contra radiações e na eliminação de radicais livres, importantes na redução dos efeitos negativos das radiações (ISLAMIAN; MEHRALI, 2015).

A produção de tomate em 2017 foi caracterizada por aumento quando comparada ao mesmo período do ano de 2016. A produção foi de 3 787 324 toneladas e produtividade de 64 618 kg ha⁻¹, sendo a variação em relação ao ano passado de 1.3% e 1.2% respectivamente para produção e produtividade (IBGE/LSPA, 2017). Entretanto 2016 quando comparado com a safra de 2015 o ano foi caracterizado por queda ficando a produção em -15,3% e produtividade - 3,3% (IBGE/LSPA, 2017). Entre outros aspectos, essa queda de produção está associada a problemas fitossanitários. De acordo com Toledo (2009) o tomateiro é grandemente suscetível a problemas fitossanitários, que podem ocorrer em todo o ciclo de produção.

Segundo Lopes e Ávila (2005) o número de doenças existentes para a cultura do tomateiro é de aproximadamente duzentos tipos, estas podem ser de origem bióticas ou abióticas, sendo que uma planta do tomateiro pode apresentar

até cinco tipos de doenças simultaneamente, podendo ocorrer em diversas partes. Ainda segundo os autores quando avaliado a participação dos patógenos, os fungos são os principais agentes causadores de doenças na cultura, respondendo como agente causal de grande maioria das doenças.

Lippia alba

A *Lippia alba*, conhecida popularmente por erva cidreira é um arbusto aromático e medicinal da família das Verbenaceae, nativa da América do Sul e de ampla distribuição no Brasil (TAVARES et al., 2005; SANTOS, 2006; BARROS et al., 2009). A espécie é rústica, de boa adaptação a ambientes diversos, vigorosa, de rápida propagação vegetativa e pode florescer durante todo o ano (YAMAMOTO, 2006).

A espécie é empregada popularmente no tratamento de doenças, sendo utilizada como calmante, sedativo e em tratamento de distúrbios estomacais. Possui propriedades anti-inflamatória, antimicrobiana, inseticida e antifúngica (JULIÃO et al., 2003; AGUIAR et al., 2008; KOUTARO et al., 2009; NICULAU et al., 2013). Suas propriedades farmacológicas estão ligadas as suas características fitoquímicas, conferida por seus metabólitos secundários como taninos, flavonóides, saponinas triterpênicas, mucilagens, resinas e óleo essencial (PASCUAL, et al., 2001). Diversos estudos estão sendo realizados com o objetivo do seu aproveitamento em biotecnologia, visando aproveitar seu potencial na produção de fármacos e na fitoterapia (CAMILLO, 2017).

Chies et al. (2013) avaliaram perfis fenólicos e atividades antioxidantes de sete diferentes acessos de *L. alba*. Foi encontrado nos acessos flavonóides como apigenina, luteolina, naringina e rutina, estes demonstrando atividades antioxidantes. Um dos acessos estudados apresentou maior presença de compostos fenólicos totais e naringina, sendo o uso do extrato obtido a partir desse acesso capaz de reduzir em ratos danos oxidativos, causado por peróxido de hidrogênio em tecidos do fígado, cerebelo, hipocampo e córtex cerebral.

Objetivando determinar características químicas do óleo essencial de *L. Alba* e seu potencial antifúngico contra fungos em relação a fungicidas sintéticos,

Glamočlija et al. (2011) realizaram estudos. Esses estudos demonstraram na composição do óleo grande presença do composto geranial, assim como seu potencial antifúngico. O óleo apresentou atividade antifúngica com concentração inibitória mínima (CMI) de 0,300 a 1,250 mg/mL e concentração mínima de fungicida (MFC) na faixa de 0,600 a 1,250 mg / mL. Estes resultados mostram ser óleo essencial de *L. alba* é uma alternativa potencial aos fungicidas sintéticos

Pandey et al. (2016) testando a eficácia de óleo essencial de *L. alba* em relação a óleos essencial de 11 espécies vegetais constaram a grande eficiência do óleo de *L. alba* no controle do patógeno de sementes *Aspergillus flavus*. O óleo foi o mais eficaz, inibindo totalmente o crescimento micelial do patógeno a concentração de 0,28 µL/mL. Doses de 80 µL/0,25 L de óleo de *Lippia* aplicadas no sistema de armazenamento das sementes inibiram significativamente a proliferação de fungos e produção de aflatoxinas, sem afetar a taxa de germinação das sementes.

Acanthospermum hispidum

Pertencente à família das Asteraceae a espécie *Acanthospermum hispidum* é uma planta anual nativa da América tropical. Possui importantes propriedades medicinais além de propriedades antibacterianas, antivirais e antifúngicas. A erva esmagada é usada na forma de uma pasta para tratar doenças de pele e o suco da folha costumam ser usados para aliviar febres (CHAKRABORTY, et al. 2012).

Conhecida popularmente por carrapicho de carneiro a espécie é encontrada em estradas, pastagens, terras cultivadas e solos onde há atividades antrópica. É bem adaptada a solo de textura leve, mas pode se desenvolver bem em solos pesados. No Brasil representa um grande problema para a cultura do algodão como planta invasora, podendo reduzir a qualidade do algodão pela contaminação por seus espinhos aquênios, além de competir por água e nutrientes com esta e outras culturas de importância econômica (CHAKRABORTY, et al. 2012).

Estudos mostram conter no *Acanthospermum hispidum* elementos fitoquímicos que podem ser utilizados na formulação de antimicrobianos (MSHANA et al., 2000). Tal fato pode estar ligado a presença de compostos como alcaloides,

lactona sesquiterpênica, glicosídeos, flavonoides, taninos e saponinas (HAREKRISHNA et al., 2010; ARENA et al., 2011).

Atividades antimicrobianas e antifúngicas de extrato metanólico de folhas de *Acanthospermum hispidum* foram testadas *in vitro*. A atividade antimicrobiana foi testada contra as espécies bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacteria*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. A atividade antifúngica contra as espécies *Aspergillus niger*, *Penicillium* sp. e *Candida albicans*. O extrato apresentou ação inibitória contra as bactérias *Corynebacteria* sp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus*, entando não apresentou atividade contra os fungos estudados (ABUBAKAR, et al., 2015).

Extrato de *Acanthospermum hispidum* também tem demonstrando potencial no tratamento de tumor. Através de análises de teste realizados em ratos foi possível verificar que o seu uso por meio de suspensão oral foi capaz de inibir a evolução de tumores em ratos portadores da doença, sugerindo o estudo que por ser a espécie vegetal fonte de diterpenos pode ser promissora em atividade antitumoral (DEEPA e RAJENDRAN, 2007).

Alternaria solani

Agente causal da pinta preta do tomateiro, o fungo *Alternaria solani* teve seu gênero descrito pela primeira vez em 1817 por Ness. A espécie é representante do grupo de fungos imperfeito e classifica-se dentro do filo *Ascomycota*, classe *Dothideomycetes*, ordem *Pleosporales*, e família *Pleosporaceae* (THOMMA, 2003).

A espécie, que teve sua primeira descrição em 1971 por Elis et al., caracteriza-se morfológicamente por apresentar conídios que podem exibir coloração variante do ouro claro a parda (TÖFOLI et. al, 2015). A largura e o comprimento dos conídios também são variáveis: segundo Hooker (1986) a espécie pode apresentar conídios com variação de comprimento entre 150 a 300 µm e largura variável de 15 a 19 µm. Os conídios normalmente ficam situados em conidióforos ou as hifas podem produzi-los diretamente (STRANDBERG, 1992).

Nikam et.al (2015) avaliando diversidade entre isolados de *Alternaria solani* observaram grandes variações morfológicas *in vitro* na espécie. Os isolados avaliados diferiram entre si no crescimento micelial, cor e diâmetro das colônias, esporulação, tamanho, comprimento e septação dos conídios.

A baixa esporulação *in vitro* é uma característica que é comum entre as espécies de *Alternaria*. Algumas condições podem alterar esse fato, como temperatura em que as colônias são incubadas, fotoperíodo, tipo de luz, composição do meio de cultura, entre outros. Pluz et.al (2009) em estudos com finalidade de observar melhores condições para crescimento e esporulação de *Alternaria solani* constataram que quando comparado ao método tradicional utilizado para crescimento e esporulação na espécie, que consiste no uso do meio BDA, período escuro e luz branca por 12 horas em uma temperatura de 25 °C, a utilização de um método alternativo com o mesmo período de escuro e luz com comprimento NUV (Near Ultraviolet) mostraram-se mais eficientes, com resultados superiores ao tradicional, principalmente quando foi feito o uso da luz negra associado ao processo de injúria ao meio. Isso pode estar ligado ao fato de que tais condições criam um ambiente mais estressante a colônia, sendo a condição de estresse fator importante na transição da fase micelial para a reprodutiva com produção de esporos (GOMES-OLIVEIRA; MATSUMURA, 2001).

Rotem (1994) em estudos mostrou haver para germinação de conídios e infecção por *Alternaria solani* faixas de temperatura variáveis da mínima a máxima, sendo para germinação de conídios essas temperaturas se estabeleceram respectivamente em 5, 27 e 35 °C para temperatura mínima, ótima e máxima. Já as temperaturas para ocorrência da infecção ficaram em 10, 25 e 35 °C. Salustiano et. al (2006) avaliando comportamento da pinta preta em baixas temperaturas constataram que quando nessas condições associados com o período de baixa ocorrência de chuva ou curto período de molhamento foliar reduzem a incidência da doença.

A pinta preta do tomateiro

Causada pelo fungo *Alternaria solani*, a pinta preta do tomateiro é umas das doenças mais frequentes no tomateiro. Podendo atacar diversas partes da planta, a doença tem um grau de importância elevado devido ao fato de ser altamente destrutiva, podendo trazer grandes prejuízos econômicos (TOLEDO et. al, 2015).

A doença caracteriza-se por formar manchas foliares em grupo ou de forma isolada, podendo formar lesões angulares ou circulares com formação de anéis concêntricos. As lesões podem também se expressar no caule, no pecíolo ou na haste da planta, apresentando forma deprimida e alongada, assim como presença ou não de anéis concêntricos. As Solanáceas quando atacadas muito jovens pelo patógeno podem sofrer estrangulamento, murcha e morte devido a formação de lesões no colo das plântulas (TÖFOLI et.al, 2015).

De acordo com Pereira et al. (2013) as folhas mais velhas são mais suscetíveis à doença, assim os primeiros sintomas da doença são observados nas folhas mais velhas, embora, caso haja condições altamente favoráveis, as folhas mais novas poderão ser afetadas. Isso se deve ao fato das folhas mais velhas requererem teores maiores de açúcares, o que favorece o processo infeccioso.

A pinta preta pode atingir níveis epidêmicos causando perdas significantes, o que geralmente acontece quando há condições favoráveis associadas a plantas suscetíveis. As condições ideais para que ocorra epidemia por *Alternaria solani* estão condicionadas à ambientes com altas temperaturas e altas umidades. Assim, epidemias severas da doença normalmente são observadas em temperaturas entre 25 e 32 °C e umidade relativa de 40% no período do dia e 95% no período da noite (TÖFOLI et.al, 2015).

As condições ambientais e o grau de resistência da planta são fatores preponderantes no desenvolvimento de uma epidemia. Isto reflete na influência que as condições ambientais podem exercer sobre a suscetibilidade do hospedeiro e principalmente sobre o ciclo de vida do patógeno, interferindo neste ciclo de forma positiva ou negativa. Quando positiva aumentando a severidade da doença permitindo ocorrência de epidemia ou quando de forma negativa impedindo que o ciclo do patógeno seja completado.

Vloutoglou et. al (2000) avaliaram os efeitos de cinco isolados de *Alternaria solani* quanto a virulência ao tomateiro. O estudo foi desenvolvido em ambiente controlado com umidade em torno de 65% a 75% e temperatura entre 22 e 24 °C.

Os isolados mostraram ser virulentos, embora tenha havido diferença significativa entre eles em relação aos sintomas e intensidade de expressão dos sintomas entre folhas, caules, pecíolo e flores. Houve desfolhação relacionada de forma linear ao percentual de folhas e área foliar com sintomas. Assim quanto maior o número de folhas com sintomas da doença e quanto maior o número de lesões maior o índice de desfolhação.

Métodos de controle

Saber manejar a cultura é de grande relevância para a redução e prevenção da pinta preta, pois seu agente causal tem a capacidade de sobreviver entre restos de culturas, podendo ainda ser disseminado através de equipamentos agrícolas ou de hospedeiro intermediários. Seus conídios são facilmente dispersos pela água, vento e insetos, sendo bastante resistentes a condições adversas, podendo permanecer por um bom período viável no solo em forma de conídio, clamidósporo ou mesmo de micélio (TÖFOLI et.al, 2015). Assim, após serem dispersos e atingir uma planta hospedeira, o patógeno, se em condições de temperatura e umidade favoráveis germina seu conídio e penetra na planta causando infecção, este por sua vez pode entra no hospedeiro através de aberturas naturais dos estômatos, por cutículas, ferimentos ou injúrias (TÖFOLI et.al, 2015).

O controle da pinta preta consiste na tomada de uma série de medidas integradas que vão desde o início da implantação da cultura no campo com a escolha de sementes sadias e cultivares resistentes até o final da produção com a eliminação dos restos culturais no final do ciclo. De acordo com Töfoli et.al (2015) a doença pode ser controlada pelo manejo da umidade, período de molhamento, evitando irrigações no período noturno e condicionando uma boa nutrição às plantas.

Escolha de mudas e sementes de boa procedência, sadias e livres de patógenos, assim como escolha da área e o período de plantio são as primeiras medidas tomadas no manejo e controle da doença, tais medidas permitem impedir a entrada e disseminação da doença por mudas infectadas e fugir de condições de temperatura e umidade favoráveis (FILHO, 2008; PERREIRA et al. 2013).

Utilizar maiores espaçamentos no cultivo, rotação de cultura, adoção de sistema de irrigação adequado com uso no período da manhã, adubação equilibrada e manter o solo coberto são métodos de controle culturais recomendados, estes atuam reduzindo a população de patógeno e fonte de inóculo, evitando a formação de microclima favorável ao patógeno e tornando a planta mais resistente a ação do patógeno (PERREIRA et al. 2013).

De acordo com Filho et al. (2008) os métodos mais utilizados são os culturais e químicos. Quando adotado o método químico representado pelos fungicidas, este deve ser utilizado de forma preventiva pela aplicação de fungicidas protetores logo no início da fase vegetativa da planta (PERREIRA et al., 2013). Fungicidas curativos são recomendados quando a doença já está estabelecida, essa classe atua de forma sistêmica e específica, no entanto quanto mais específica a classe de fungicida, maior a sua chance de conduzir seleção de patógenos resistentes (TÖFOLI et al., 2003).

Devido aos problemas que os métodos de controle químicos podem acarretar e em função da exigência do mercado por produtos alimentares mais seguros, métodos de controles alternativos tem impulsionado a exploração de compostos antimicrobianos extraídos a partir de plantas (CUNICO et al., 2003).

Uso de extratos vegetais no controle de patógenos

Extratos vegetais são preparados concentrados obtido a partir de material vegetal, podendo ser de consistências variadas. A matéria prima empregada pode passar ou não por tratamentos prévios, como inativação enzimática ou moagem. Sua fabricação é realizada basicamente em duas etapas, sendo a primeira a separação de compostos específicos através de um solvente e a segunda a concentração do extrato pela eliminação total ou parcial do solvente (EXTRATOS VEGETAIS, 2010).

A utilização de extratos vegetais tem sido largamente descrita nas literaturas no controle dos mais diversos tipos de patógenos, utilizando-se as mais variadas espécies de plantas (RODRIGUES et al., 2006; SOUZA et al., 2007; ROSWALKA et al. 2008; GARCIA et al. 2012; SIMON et al., 2016; GOMES et al. 2017). A popularidade de tais produtos como defensivos vem aumentando cada vez mais,

devido à presença de agentes antimicrobianos contra fitopatógenos e por serem relativamente seguros (GURJAR et al., 2012).

O uso de extratos vegetais tem-se mostrado uma boa alternativa no controle de doenças de plantas, representando também uma solução para redução do uso de fungicidas (SOUZA et al., 2007). Isso devido ao fato de apresentarem uma vasta gama de princípios ativos com capacidade de controle microbiano, se mostrando em alguns casos superiores a fungicidas sintéticos, entretanto com efeitos tóxicos ao homem e ao ambiente reduzidos (STANGARLIN et al., 1999). De acordo com Potenza (2004) as plantas funcionam como reservatório de substâncias importantes, que atuam em sua própria defesa através do metabolismo secundário, como alcaloides, flavonoides, glicosídeos, fenóis, glicosinolatos, terpenos, lactonas, diterpenoides, saponinas, limonoides, carotenoides, quinonas e poliacetilenos.

A grande quantidade de princípios ativos de plantas tem levado pesquisadores a desenvolver inúmeras pesquisas com o uso de extratos vegetais no controle de fungos, objetivando seu uso na formulação de fungicidas (FRANZER et al., 2003). Trabalhos realizados por Hanaa et al., (2011), com extratos aquosos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) e salgueiro (*Salix babylonica*) causaram redução na incidência da fusariose em mudas de tomateiro pelo aumento da atividade de enzimas de defesa antioxidantes e diminuindo o nível de peroxidação lipídica. Após serem tratadas com extrato aquoso de nim e salgueiro a 10%, as mudas de tomateiro foram inoculadas com *Fusarium*, sendo observado que as plantas tratadas reduziram a percentagem de incidência da doença em 25,5% e 27,8% após seis semanas de infecção respectivamente.

Estudo com extratos vegetais em patógenos tem demonstrado sua capacidade de redução de crescimento das seguintes espécies: *Fusarium semitectum*, *Curvularia*, *Alternaria*, *Bipolaris sorokiniana*, *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* (BARROS et al., 1995; MOTOYAMA et al. 2003, RODRIGUES et al., 2006, ROSWALKA et al. 2008). Testes realizados por Carneiro et al. (2007) com folhas e sementes de nim em diferentes concentrações no controle de oídio do feijoeiro mostraram resultados satisfatórios, e quando comparado à eficiência entre esses extratos, o de sementes teve maior poder de controle.

Extratos de espécies como Aroeirinha (*Schinus molle* L.), Mentrasto (*Ageratum conyzoides* L.), Alfavaca (*Ocimum gratissimum* L.), Losna (*Artemisia absinthium* L.), Jambolão (*Syzygium cumini* L.), Arruda (*Ruta graveolens* L.), Mandioca (*Manihot esculenta*), Santa Bárbara (*Melia azedarach* L.) e Pimenta longa (*Piper aduncum* L.), foram testados no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, causador do mofo branco. Os resultados mostraram que a Pimenta longa foi a mais eficiente no controle do patógeno, com inibição de crescimento micelial de 43% (GARCIA, et al. 2012).

Objetivando controlar a murcha de berinjela trabalhos utilizando extrato de *Azardiachta indica*, *Artemesia annua*, *Eucalyptus globulus*, *Ocimum sanctum* e *Rheum emodi* foram testados em concentrações de 5, 10, 15 e 20%. Todos os extratos causaram redução significativa no crescimento do patógeno. Entretanto, a concentração de 20% foi a mais eficiente, mostrando-se uma boa alternativa, visto que é de fácil acesso no controle de doenças das plantas (JOSEPH et al., 2008).

Ferreira et al., (2014), realizando trabalhos com extratos vegetais no controle de antracnose em mamoeiro, causada por *Colletotrichum gloeosporioides* avaliaram o efeito dos tratamentos de extratos aquosos de folhas de erva-cidreira (*Melissa officinalis* L.) e graviola (*Annona muricata*) e extratos aquosos de semente de graviola e nim (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre o patógeno. Os resultados obtidos mostraram que os efeitos dos tratamentos com folhas de erva-cidreira e com sementes de graviola foram os mais eficientes na redução do crescimento micelial, inibindo o crescimento até seis dias.

Franzener et al., (2003) avaliando os efeitos diretos e indiretos do extrato vegetal de cânfora no controle de *Bipolaris sorokiniana* em plantas de trigo puderam comprovar sua eficácia na redução de crescimento micelial e esporulação, onde meio com concentração de 50% de extrato promoveu redução no crescimento de 39% e concentração de 10% foi capaz de eliminar a esporulação. Houve também indução de resistência na planta reduzindo o tamanho e o número de lesões em 29 e 60% respectivamente.

Óleos essenciais obtidos a partir de *Lippia alba* mostraram atividade antagônica sobre o patógeno *Alternaria solani*, inibindo o desenvolvimento micelial pela presença de atividade antifúngica, com a vantagem da ausência de efeitos negativos sobre a germinação e desenvolvimento da semente e da planta, isso

sugere que produtos extraído de plantas podem garantir sucesso no controle de fitopatógenos com baixo impacto e risco ao ambiente (TOMAZONI et al., 2016).

Kagale et al., (2011) verificaram que a aplicação foliar de extratos aquosos de folhas de *Zizyphus jujuba* e *Ipomoea carnea* em plantas de arroz seguido da inoculação com *Rhizoctonia solani* induziram a resistência sistêmica, aumentando significativamente a partir do tratamento a acumulação de proteínas relacionada à patogênese, quitinase, β -1,3-glucanase e peroxidase. Foi também constatado o aumento de compostos relacionados com a defesa, tais como fenilalanina e substâncias fenólicas.

Os resultados expressos indicam a capacidade dos extratos vegetais atuarem não somente em ação direta sobre o patógeno (FRANZENER et al., 2007), mas também que os compostos vegetais podem atuar de forma indireta sobre o hospedeiro, promovendo a ativação de seu mecanismo de defesa contra o patógeno (SCHWAN-ESTRADA; STANGARLIN, 2000).

Indução de resistência

Embora as plantas estejam constantemente expostas a um grande número de potenciais agentes patogênicos, elas evoluíram resultando na criação de mecanismos de defesas altamente eficientes para se defender tornando-se resistentes. Essa resistência é a capacidade que as plantas possuem de impedir ou retardar a entrada, crescimento, desenvolvimento e atividade de um determinado agente patogênico (PASCHOLATI, 1991).

Por possuir mecanismos de defesa contra patógeno altamente eficiente à resistência de plantas é colocada como regra e sua suscetibilidade a patógenos como exceção (AGRIOS, 2005). Assim ao perceberem agressão por parte de um agente patológico as plantas utilizam de mecanismos para se proteger. Os mecanismos de defesa das plantas podem ser passivos ou ativos e se dividem em bioquímicos ou estruturais (GUEST; BROWN, 1997). Mecanismos de defesa passivos, também denominados de constitutivos ou pré-formados, são aqueles já existentes nas plantas antes mesmo que estas sofram qualquer tipo de ataque por parte de um agente patogênico. Os mecanismos de defesa ativos ou pós-formados

são induzidos pela presença de um agente elicitador, podendo ser tais agentes de natureza biótica ou abiótica (BONALDO et al, 2005).

Os mecanismos de defesa bioquímicos atuam de forma antagônica ao patógeno pela criação de ambiente adverso ou emitindo substâncias capazes de inibir a sua atividade. Os estruturais por sua vez são barreiras que os patógenos encontram estes impedem sua penetração e colonização (SCHWAN-ESTRADA et al., 2008). Representando defesas de classe estrutural passiva, entre outros podem ser citados: estômatos, tricomas e cutículas. Na classe de defesa passiva bioquímica, podem ser citados as fototoxinas, fenóis, saponinas, glicosídeos e alcaloides. Papilas, lignificações, camadas de abscisões e tiloses exemplificam defesas físicas pós- formadas, assim como fitoalexinas, quitinase, β -1,3-glucanase e proteínas-RP exemplificam defesas bioquímica pós-formada (GUEST; BROWN, 1997).

A ativação dos mecanismos de resistência ocorre quando agentes indutores entram em contato com a planta, padrões moleculares são ativados ocorrendo reconhecimento por receptores ligados à membrana da célula. Posteriormente ocorre a sinalização para que a planta se defenda, ocorrendo processos de percepção de sinais por receptores na planta. Logo após haverá a transdução do sinal em um sitio de ação dentro da célula, finalizando o processo com a tradução do sinal, que nada mais é que a transformação desses sinais em respostas de defesa (HUTCHESON, 1998). Neste processo uma serie de reações fisiológicas podem ocorrer na planta, tais como: formação de espécies reativas de oxigênio devido rápida explosão oxidativa, reação de hipersensibilidade, produção de fitoalexinas, influxo de cálcio e síntese de proteínas (RESENDE et al., 2003; GUEST; BROWN, 1997).

A Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) e Resistência Sistêmica induzida (RSI) são basicamente os dois tipos de respostas de defesas que podem ser desencadeadas pela planta frente a um agente indutor. Esses tipos de resistências se diferem um do outro em função do tipo de agente que promove a indução e vias de sinalização do hospedeiro (BONALDO et al., 2005).

A RSA pode ser ativada por indutores químicos, agentes patogênicos e não patogênicos assim como microrganismos virulentos e não virulentos. Neste tipo de resistência há acúmulo de proteína relacionada a patogênese e formação de

necroses, que podem se proveniente de reação de hipersensibilidade. A sinalização protéica para a defesa contra patógeno é dependente do ácido salicílico (Métraux, 2001). A RSI por sua vez tem como agente elicitor normalmente bactérias promotoras de crescimento, não há acúmulo de proteínas ou formação de lesões necróticas e sua rota de sinalização é via etileno e jasmonatos (Cavalcanti et al., 2005).

Balbi-Peña et al., (2006) avaliaram extratos de cúrcuma e curcumina no controle da pinta preta em tomateiro em condições de casa de vegetação. No estudo foram avaliados além do extrato de cúrcuma (1 e 10%) e curcumina (50 e 100 mg/L) os tratamentos acibenzolar-S-metil (ASM), oxiclreto de cobre, azoxystrobin. Foi verificado que a curcumina e os extratos brutos de cúrcuma apresentaram níveis de controle de pinta preta similares ao tratamento com fungicida cúprico, mas inferior ao azoxystrobin. Os resultados colocam os extratos de cúrcuma e curcumina como potencial método para controle da pinta preta.

Latha et al., (2009) testaram extratos vegetais de 20 plantas quanto a sua eficiência no controle *in vitro* e em vivo de *Alternaria solani*. Entre os extratos testados o de *Zimmu* obteve boa resposta no controle do patógeno, promovendo controle direto pela inibição do crescimento micelial e controle indireto pela indução de enzimas de defesas. O extrato promoveu inibição do crescimento micelial em 87% e promoveu o aumento de enzimas como peroxidase, polifenol oxidase, fenilalanina amônia-liase, quitinase e β -1,3-glucanase e acumulação de fenólicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUBAKAR, Ali et al. Phytochemical Screening and in-Vitro Antimicrobial Activities of the Leaf Extract of *Acanthospermum hispidum* DC (Asteraceae). **Journal of Plant Studies**, v. 4, n. 2, p. 66, 2015.
- AGARWAL, S.; RAO, A. V. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. **Canadian Medical Association Journal**, v. 163, n. 6, p. 739-744, 2000.
- AGRIOS, G. N **Planta Pathology** 4. ed San Diego: Academic. 635p. 1997.
- AGUIAR, J. S. et al. Antimicrobial activity of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 3, p. 436-440, 2008.
- BALBI-PEÑA, M. I. et al. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina-II. Avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 401-404, 2006.
- BARROS, S. T.; OLIVEIRA, N.T de; MAIA, L. C. Efeito do extrato de alho (*Allium sativum*) sobre o crescimento micelial e germinação de conídios de *Curvularia* spp. e *Alternaria* sp. **Summa Phytopathologica**, v. 21, n. 2, p. 168-170, 1995.
- BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.F.; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: Cavalcanti, L.S., Di Piero, R.M., Cia, P., Pascholati, S.F., Resende, M.L.V. & Romeiro, R.S. (Eds.) Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba SP. FEALQ. p. 11-28, 2005.
- CAMILLO, F. C. *Lippia alba* (Mill.) N.E. Br. Britton & P. Wilson uma espécie nativa promissora para a introdução em programas nacionais de plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Fitos Eletrônica**, v.10, p. 21-27, 2017.
- CARNEIRO, S. M. de T. P. G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 29, n. 3, p. 262-265, 2003.

CARNEIRO, S.; PIGNONI, E.; GOMES, J. C. Efeito do nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) no controle da mancha angular do feijoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 10, n. 3, p. 6-10, 2008.

CARVALHO, J. L.; PAGLIUCA, L. G. Tomate: Um mercado que não para de crescer globalmente. **Revista Hortifruti Brasil**, v. 6, n. 58, p. 6-14, 2007.

CAVALCANTI, L. S. et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, 2005. 263p.

CELOTO, M. I. B. et al. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.30, n.1, p.1-5, 2008.

CHAKRABORTY, A. K.; GAIKWAD, A. V.; SINGH, K. B. Phytopharmacological review on *Acanthospermum hispidum*. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, p. v. 2, n. 1, p. 144-148, 2012.

CHIES, C. E. et al. Antioxidant Effect of *Lippia alba* (Miller) NE Brown. **Antioxidants**, v. 2, n. 4, p. 194-205, 2013.

CUNICO, M. M. et al. Estudo da atividade antifúngica de *Ottonia martiana* Miq., Piperaceae: um teste in vivo. **Visão Acadêmica**, v. 4, n. 2, p. 77-82, 2003.

DALLA, P. M.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Quantificação de componentes monocíclicos da antracnose do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 401-407, 2003.

DEEPA, N.; RAJENDRAN, N. N. Anti-bacterial and Anti-fungal Activities of Various Extracts of *Acanthospermum hispidum* DC. **Journal of Natural Remedies**, v. 7, n. 2, p. 225-229, 2007.

DEEPA, N.; RAJENDRAN, N. N. Anti-tumor activity of *Acanthospermum hispidum* DC on dalton ascites lymphoma in mice. **Natural Product Sciences**, v. 13, n. 3, p. 234-240, 2007.

ELLINGER, S.; ELLINGER, J.; STEHLE, P. Tomatoes, tomato products and lycopene in the prevention and treatment of prostate cancer: do we have the

evidence from intervention studies? **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, v. 9, n. 6, p. 722-727, 2006.

ELLIS, M. B. et al. Dematiaceous hyphomycetes. **Dematiaceous hyphomycetes**, p. 608, 1971.

FERREIRA, E. F. et al. Use of plant extracts on control in vitro of *Colletotrichum gloeosporioides* collected in papaya fruits (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 346-352, 2014.

FILGUEIRA, F. A. R. **Solanáceas: agrotecnologia moderna na produção de tomate, batata, pimentão, pimenta, beringela e jiló**. Ufla. P 2003.

FILHO A. M. F. et al. Controle da pinta preta (*Alternaria solani*) por meio de fungicidas na cultura do tomate. **Horticultura Brasileira**, v.26, p.2922-2926.

FLEISCHER, T. C.; AMEADE, E. P. K.; SAWER, I. K. Antimicrobial activity of the leaves and flowering tops of *Acanthospermum hispidum*. **Fitoterapia**, v. 74, n. 1, p. 130-132, 2003.

FRANZENER, G. et al. Fungitoxic activity and resistance induction in wheat plants against *Bipolaris sorokiniana* by *Artemisia camphorata*. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 25, n. 2, p. 503-507, 2003.

FREEMAN, S.; KATAN, T.; SHABI, E. Characterization of *Colletotrichum* species responsible for anthracnose diseases of various fruits. **Plant disease**, v. 82, n. 6, p. 596-605, 1998.

GARCIA, R. A. et al. Antifungal activity of vegetable oils and extracts against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 1, p. 48-57, 2012.

GLAMOČLIJA, J. et al. Chemical characterization of *Lippia alba* essential oil: an alternative to control green molds. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, n. 4, p. 1537-1546, 2011.

GOMES, F. H. T. et al. Atividade inseticida de extratos vegetais sobre o pulgão-preto do feijoeiro. **REVISTA DE CIÊNCIAS AGROAMBIENTAIS**, v. 15, n. 1, 2017.

GOMES, S.M.D.T.P. et al. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2007.

GOMES-OLIVEIRA, I. V.; MATSUMURA, A.T.S. Técnica de obtenção de filtrado de cultura de *Alternaria solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, p. 102, 2001.

GRAINGER, E. M. et al. A combination of tomato and soy products for men with recurring prostate cancer and rising prostate specific antigen. **Nutrition and cancer**, v. 60, n. 2, p. 145-154, 2008.

GUEST, D.; BROWN, J. Plant defences against pathogens. **Plant pathogens and plant diseases**, p. 263-286, 1997.

GURJAR, M. S. et al. Efficacy of plant extracts in plant disease management. **Agricultural Sciences**, v. 3, n. 3, p. 425, 2012.

HANAA, R.M. F. et al. Effect of neem and willow aqueous extracts on *Fusarium* wilt disease in tomato seedlings: Induction of antioxidant defensive enzymes. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 56, n. 1, p. 1-7, 2011.

HOOKER, W. J. **Compendium of potato diseases**. International Potato Center, p.125, 1981.

HUTCHESON, S. W. Current concepts of active defense in plants. **Annual review of phytopathology**, v. 36, n. 1, p. 59-90, 1998.

IBGE. Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. **Levantamento sistemático da produção agrícola**, v. 30, n. 1, p.1, 2017.

IBGE. Pesquisa mensal de previsão e acompanhamento das safras agrícolas no ano civil. **Levantamento sistemático da produção agrícola**, v. 29, n. 12, p.1, 2016.

ISLAMIAN, J. P.; MEHRALI, H. Lycopene as a carotenoid provides radioprotectant and antioxidant effects by quenching radiation-induced free radical singlet oxygen: An overview. **Cell Journal (Yakhteh)**, v. 16, n. 4, p. 386, 2015.

ITAKO, A. T. et al. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 3, p. 241-244, 2008.

JULIÃO, L. S. et al. Cromatografia em camada fina de extratos de três quimiotipos de *Lippia alba* (Mill) NE Br.(erva-cidreira). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, p. 36-38, 2003.

JÚNIOR, H. J. T.; MELLO, M. B.A; JÚNIOR, N. S. M. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **crops**, v. 32, n. 1, p. 71-79, 2006.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. Doenças das Solanáceas. In: KIMATI, H.; AMORIN, L.; REZENDE, JAM; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, 4 eds., p. 594-595, 2005.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. Doenças do Tomateiro. In: KIMATI, H; AMORIN, L.; RESENDE, J.A.M. BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L.E.A. Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, 4 eds., p.607-626, 2005.

LATHA, P. et al. Antimicrobial activity of plant extracts and induction of systemic resistance in tomato plants by mixtures of PGPR strains and *Zimmu* leaf extract against *Alternaria solani*. **Biological Control**, v. 50, n. 2, p. 85-93, 2009.

LOPES, C.A. Doenças do tomateiro. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, p. 15, 2005.

MAGALLANES, C; CÓRDOVA, C; OROZCO, R. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú. **Revista peruana de Biología**, v. 10, n. 2, p. 125-132, 2003.

MÉTRAUXS, J.P. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, n. 1, p. 13-18, 2001.

MOTOYAMA, M. M. et al. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.25, n.2, p.491-496, 2003.

NEES V. E. System der Pilze Urid Schwamme. 1817.

NIKAM, P. S.; SURYAWANSHI, A. P.; CHAVAN, A. A. Pathogenic, cultural, morphological and molecular variability among eight isolates of *Alternaria solani*, causing early blight of tomato. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, n. 10, p. 871-877, 2015.

PANDEY, A. K.; SONKER, N.; SINGH, P. Efficacy of some essential oils against *Aspergillus flavus* with special reference to Lippia alba oil an inhibitor of fungal proliferation and aflatoxin B1 production in green gram seeds during storage. **Journal of food science**, v. 81, n. 4, p. 928-934, 2016.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 2, p. 1-51, 1994.

PEREIRA, R. B.; CARVALHO, A. D. F.; PINHEIRO, J. B. Manejo da pinta preta: uma ameaça às lavouras de tomateiro a céu aberto. **Brasília, DF: Embrapa Hortaliças**, 2013.

POTENZA, M. R. Produtos Naturais para o Controle de Pragas. X Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico – Café. Mococa: Instituto Biológico, 2004. 101p.

PULZ, P. et al. Efeito de meios de cultura e fatores físicos no crescimento e esporulação de *Alternaria dauci* e *A. solani*. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 2, p. 121-126, 2009.

RODRIGUES, E. A. et al. Potencial da planta medicinal *Ocimum gratissimum* no controle de *Bipolaris sorokiniana* em sementes de trigo. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.28, n.2, p.213- 220, 2006.

ROTEM, J. et al. The genus *Alternaria*: biology, epidemiology, and pathogenicity. **American Phytopathological Society**, 1994.

ROZWALKA, L. C. et al. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum*

gloeosporioides de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.2, p.301-307, 2008.

SALUSTIANO, M. E. et al. Tomato blight management in low temperature periods. **Summa Phytopathologica**, v. 32, n. 4, p. 353-359, 2006.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M.E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v. 30, n. 1-2, p. 129-137, 2000.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. **Interação Planta Patógeno Fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular**. Piracicaba: ESALQ, p. 227-248, 2008.

SILVA, K. S. et al. Patogenicidade causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) em diferentes espécies frutíferas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 131-133, 2006.

SILVA, R. F.; PASCHOLATI, S. F.; BEDENDO, I. P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, n. 3, p. 189-196, 2007.

SIMON, G. A. et. al. Potato clones selection for early blight resistance and heat tolerance. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v.56, n.1, p.031- 037, 2009.

SIMON, J. M. et al. Fungitoxic activity of plant extracts and commercial products against *Diplocarpon rosae*. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 4, p. 351-356, 2016.

SINDHAN, G. S.; HOODA, I.; PARASHAR, R. D. Evaluation of plant extracts for the control of powdery mildew of pea. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, v. 29, n. 2, p. 257-258, 1999.

SINIGAGLIA, C.et. al. Manejo integrado de pragas e doenças do tomateiro. Campinas: **Secretaria de Agricultura e Abastecimento**, v. 6, p. 66,2000.

SLATER, A.; SCOTT, N.; FOWLER, M. Plant disease resistance. In: SLATER, A.; SCOTT, N.; FOWLER, M. **Plant Biotechnology: The genetic manipulation of plants**. Oxford: New York, p.157- 178, 2003.

SOARES, J. A. P.; FARIAS, L. M. Efeito do licopeno do tomate na prevenção do câncer de próstata. **Revista Interdisciplinar NOVAFAPI**, v. 2, p. 50-54, 2012.

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

STANGARLIN, J. R. et al. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 11, n. 3, p. 16-21, 1999.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. **Annual review of phytopathology**, v. 35, n. 1, p. 235-270, 1997.

STRANDBERG, J. O. *Alternaria* species that attack vegetable crops: Biology and options for disease management. **Alternaria biology, plant disease and metabolites**, p. 175- 208, 1992.

SUTTON, B.C. The Coelomicetes. Commonwealth. **Mycological Institute**, Kew, Surrey, England, p. 696, 1980.

TAGAMI, O. K. et al. Fungitoxicity of *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* and *Rosmarinus officinalis* in the in vitro development of phytopathogens fungi. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 2, p. 285-294, 2009.

TALVAS, J. et al. Differential effects of lycopene consumed in tomato paste and lycopene in the form of a purified extract on target genes of cancer prostatic cells. **The American journal of clinical nutrition**, v. 91, n. 6, p. 1716-1724, 2010.

THOMMA, B. P.H.J. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. **Molecular plant pathology**, v. 4, n. 4, p. 225-236, 2003.

TÖFOLI, J. G. et al. Controle da pinta preta do tomateiro por fungicidas e seus impactos na produção. **Summa Phytopathologica**, v. 29, n. 3, p. 225-233, 2003.

TÖFOLI, J. G. et. al. Potato late blight and early blight: importancy, characteristics and sustainable management. **Biológico**, São Paulo, v.75, n.1, p.33-40, 2013.

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J.; KUROZAWA, C. Ação “*in vitro*” de fungicidas no crescimento micelial e germinação de conídios de *Alternaria solani*, agente causal da pinta preta do tomateiro. **Instituto Biológico, São Paulo**, v. 70, n. 3, p. 337-345, 2003.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J.; FERRARI, J.T. *Alternaria* spp. Em oleráceas: sintomas, etiologia, manejo e fungicidas. Divulgação técnica. **Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p.21-34, 2015.

TOLEDO, M. V.; STANGARLIN, J. R.; BONATO, C. M. Controle da pinta preta e efeito sobre variáveis de crescimento em tomateiro por preparados homeopáticos. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 2, p. 126-132, 2015.

TOLEDO, M. V.; STANGARLIN, J. R.; BONATO, C. M. Uso dos medicamentos homeopáticos Sulphur e Ferrum sulphuricum no controle da doença Pinta Preta em tomateiro. **Cadernos de Agroecologia**, v. 4, n. 1, 2009.

TOMAZONI, E. Z. et al. In vitro antifungal activity of four chemotypes of *Lippia alba* (Verbenaceae) essential oils against *Alternaria solani* (Pleosporaceae) isolates. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 2016.

VALE, F. X. R.; PARLEVLIT, J. E.; ZAMBOLIM, L. Concepts in plant disease resistance. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 3, p. 577-589, 2001.

VEGETAIS, EXTRATOS. Food Ingredients Brasil. **São Paulo**, n. 11, p. 16-20, 2010.

VLOUTOGLOU, I.; KALOGERAKIS, S. N.; DARRAS, A. Effects of isolate virulence and host susceptibility on development of early blight (*Alternaria solani*) on tomato. **EPPO Bulletin**, v. 30, n. 2, p. 263-267, 2000.

YAMAMOTO, P. Y. Interação genótipo x ambiente na produção e composição de óleos essenciais de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. 2006, 77p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agronômico, Universidade de São Paulo, Campinas.

ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, W. S.; OLIVEIRA, S. H. F. Manejo da resistência de fungos a fungicidas. **Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora**, v. 168, 2007.

ARTIGO 1

EXTRATOS DE *Acanthospermum hispidum* E *Lippia alba* NO CONTROLE *IN VITRO* DE *Alternaria solani*¹

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico.

Extratos de *Acanthospermum hispidum* e *Lippia alba* no controle *in vitro* de *Alternaria solani*

Resumo: Neste trabalho teve por objetivo avaliação *in vitro* do potencial de extratos vegetais de *Acanthospermum hispidum* e *Lippia alba* no controle de *Alternaria solani*. Para avaliação da atividade antifúngica, os extratos foram inseridos aos meios de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) e BD (batata e dextrose) e avaliados o crescimento micelial e germinação dos conídios respectivamente. As concentrações dos extratos utilizadas foram 1, 5, 10,15 e 20 %. Os extratos demonstraram atividade antifúngica controlando tanto o crescimento micelial do patógeno quanto sua esporulação. O extrato de *A. hispidum* promoveu até 44,4 % de redução no crescimento micelial e 68 % de germinação. O extrato de *L. alba* reduziu o crescimento micelial até 80,5 % e 71,5 % da germinação. Ambos os extratos se mostraram potenciais alternativa no controle da pinta preta do tomateiro.

Palavras-chave: Controle alternativo, antifúngica, crescimento micelial.

Extracts of *Acanthospermum hispidum* and *Lippia alba* in the in vitro control of *Alternaria solani*

Abstract: The objective of this work was to evaluate the potential of plant extracts of *Acanthospermum hispidum* and *Lippia alba* in the control of *Alternaria solani*. For the evaluation of the antifungal activity, the extracts were inserted into the culture media BDA (Potato-Dextrose-Agar) and BD (Potato and Dextrose) and evaluated the mycelial growth and germination of the conidia respectively. The extracts concentrations used were 1, 5, 10, 15 and 20%. The extracts showed antifungal activity controlling both the mycelial growth of the pathogen and its sporulation. The extract of *A. hispidum* promoted up to 44,4% reduction in mycelial growth and 68% of germination. *L. alba* extract reduced mycelial growth up to 80,5% and 71,5% of germination. Both extracts showed potential alternative in the control of the early blight of tomato.

Keywords: Alternative control, antifungal, mycelial growth.

INTRODUÇÃO

A pinta preta, doença causada pelo fungo *Alternaria solani* é uma das doenças mais frequente no tomateiro e pode ocorrer em todas as fases do cultivo (SINIGAGLIA et al., 2000). A doença caracteriza-se por formar manchas foliares em grupo ou de forma isolada, podendo formar lesões angulares ou circulares com formação de anéis concêntricos. As lesões podem também se expressar no caule, no pecíolo ou na haste da planta, apresentando forma deprimida e alongada, assim como presença ou não de anéis concêntricos. As Solanáceas quando atacadas muito jovens pelo patógeno podem sofrer estrangulamento, murcha e morte devido a formação de lesões no colo das plântulas (TÖFOLI et.al, 2015).

Regiões de condições tropicais apresentam altas incidências da pinta preta, em função das condições de altas temperaturas associadas à altos índices de umidade, que favorecem ao desenvolvimento do seu agente causal, podendo gerar perdas de 60 a 100% da produção (SIMON et al., 2009; TÖFOLI et al., 2013). Quando não controlada, a pinta preta afeta a qualidade e número de frutos, assim como o próprio vigor da planta, podendo a morte (KUROZAWA; PAVAN, 2005; LOPES, 2005).

O método de controle químico, representado pelos fungicidas, é o mais utilizado no controle de doenças de plantas. No entanto, mesmo com a popularidade que possui, por ser um método de controle e prevenção relativamente mais rápido quando comparado aos demais métodos. Alguns questionamentos têm sido levantados, tanto em relação aos efeitos que causam ao meio ambiente, quanto em relação à seleção de indivíduos resistentes a tais produtos. Segundo Zambolim et al., (2007), os fungicidas, devido à sua especificidade condicionam possível resistência aos fungos, sendo então recomendado utilizar variações de métodos de controles, objetivando impedir essa possível resistência.

O uso de extratos vegetais tem-se mostrado uma boa alternativa no controle de doenças de plantas, representando também uma solução na redução do uso de fungicidas (SOUZA et al., 2007). Por apresentarem uma vasta gama de princípios ativos com capacidade de controle microbiano, mostram-se em alguns casos superiores á fungicidas sintéticos (STANGARLIN et al., 1999).

Estudos buscam inserir o uso de plantas medicinais no controle de microrganismos causadores de doenças, a exemplo tem-se a espécie *Acanthospermum hispidum*, espécie invasora também utilizada medicinalmente. Suas folhas e partes aéreas possuem ação antimicrobiana. O extrato etanólico de suas folhas e flores tem efeito comprovado contra ampla gama de patógenos (CHAKRABORTY, 2012).

A espécie *Acanthospermum hispidum* possui diversos compostos na sua constituição fitoquímica, como alcaloides, carboidratos, glicosídeos, lactonas sesquiterpênicas, flavonoides, terpenoides, triacotano, saponinas e taninos (MATHUR e BEJARANE, 1976; CARTAGENA, et al., 2000; BERO et al., 2011). A espécie também tem sido relatada desempenhando atividades biológicas como atividades antiviral, teratogênica, anti-helmíntico, antitumoral, antitripsoma e antifúngicas (LEMONICA e ALVARENGA, 1994; SUMMERFIELD, et al., 1997; DEEPA et al., 2004; DEEPA e RAJENDRAN, 2007; ROY et al., 2010).

A *Lippia alba* um arbusto medicinal e aromáticas é rica em metabólitos secundários, esses possuem ação sedativa, calmante e anti-inflamatória sendo a planta bastante utilizada na medicina popular. A planta possui atividade antimicrobiana, inseticida e antifúngica, sendo estudada no controle de patógeno de plantas (TAGAMI et al., 2009; NICULAU et al., 2013; GONÇALVES et al., 2016). De acordo Tavares et al., (2011) a *Lippia alba* pode ser exploradas na agricultura orgânica devido atividades antibacterianas, antifúngicas e contra protozoários, atividades conferidas por suas características fitoquímicas, que dispõe entre outros compostos de terpenoides, carvonas, alcaloides, flavonoides, taninos e esteroides (TAVARES et al., 2011; GOMES et al., 2016).

Assim este trabalho teve como objetivo analisar o potencial de extratos vegetais de *Acanthospermum hispidum* e *Lippia alba* no controle *in vitro* de *Alternaria solani*.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de coleta

As plantas utilizadas no experimento para formulação dos extratos foram coletadas na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus de Cruz das Almas. As plantas de *Acanthospermum hispidum* (Carrapicho de Carneiro) foram oriundas de área de plantas espontâneas. As plantas de *Lippia alba* (Erva Cidreira) foram coletadas de área de cultivo da espécie.

Obtenção do extrato e triagem fitoquímica

Para a formulação dos extratos utilizou-se a metodologia descrita por Magallanes et al., (2003), na qual folhas coletadas de carrapicho de carneiro (*Acanthospermum hispidum*) e Erva Cidreira (*Lippia alba*) foram secas em estufa a 40 °C. Após a secagem as folhas foram trituradas em moinho de facas e submetidas a processos de obtenção de extratos. Para isso 150 mL de álcool metílico foram adicionados a 100 g das folhas trituradas mantendo-se em repouso por 72 horas abrigado de luz. Após este período, a parte líquida foi filtrada e armazenada, repetindo o processo por mais duas vezes somando-se as alíquotas. Após o referido processo foi realizada a eliminação do solvente em evaporador rotativo obtendo o extrato concentrado e seco.

A triagem fitoquímica foi realizada por método colorimétrico, analisando a presença de alcaloides, esteroides, flavonoides, galataninos, taninos, terpenoides e saponinas, segundo metodologias descritas por Joshi et al., (2013); Azevedo et al., (2014) e Iqbal et al., (2015).

Obtenção de isolados de *Alternaria solani*

Os isolados foram obtidos por meio de isolamento direto. Plantas de tomateiro com sintomas da pinta preta foram coletadas no município de Cruz das Almas e conduzidas a Clínica Fitossanitária da UFRB, onde se procedeu o

isolamento do patógeno direto das lesões. Os isolados foram incubados a 25 °C e fotoperíodo de 12 h em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar).

Quantificação de inibição do crescimento micelial

Discos com diâmetro de 5 mm de meio contendo micélio do fungo foram transferidos para placas de Petri contendo meio BDA acrescido com extratos vegetais nas concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20 %. As placas foram mantidas em incubadora, a 25± 2 °C e fotoperíodo de 12 h, sendo as medidas das colônias mensuradas em dois sentidos, diariamente por sete dias. O percentual de inibição do crescimento micelial (ICM) teve por base a comparação do crescimento obtido em cada tratamento com o crescimento da testemunha (cultivo do patógeno em meio BDA sem adição de extratos vegetais), utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{ICM (\%)} = \frac{\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento} \times 100}{\text{diâmetro da testemunha}}$$

Houve também o uso de controle positivo, representado por fungicida Azoxistrobina (0,0001 e 0,001 mg/mL). Aplicou-se aos dados análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com 7 repetições.

Inibição da germinação de esporos

Suspensão de esporos 10⁻⁴ conídios/mL foram adicionadas em meio BD (batata-dextrose) acrescido do extrato nas mesmas concentrações testadas na análise de crescimento micelial e mantidas por 12 h a 25 °C . Após esse período, adicionou-se 20 µl de corante azul de algodão para paralisar a germinação. Foram observados 100 esporos por repetição sob microscópio ótico para obtenção do percentual de esporos germinados. Sendo considerados germinados esporos com tubos germinativos com comprimento igual ou maior que o tamanho do esporo (Figura 1B). o fungicida Azoxistrobina foi utilizado como controle positivo nas concentrações 0,0001 e 0,001 mg/mL. O efeito dos extratos sobre a germinação de esporos foram avaliados por meio de teste Qui-Quadrado.

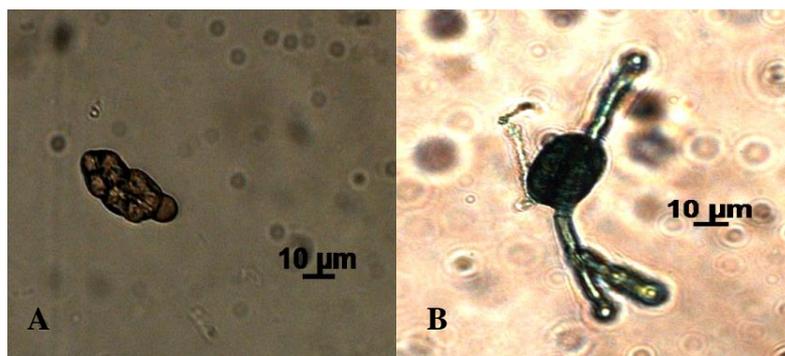


Figura 1: Esporos de *Alternaria solani* não germinado (A) e germinado (B)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Triagem fitoquímica dos extratos

De acordo com as análises fitoquímica realizadas tanto o extrato de *Acanthospermum hispidum* e *Lippia alba* demonstraram a presença de alcaloides, taninos, triterpenos e saponinas. Entretanto a presença de galataninos foi encontrada apenas no extrato de *Acanthospermum hispidum* e flavonóides apenas no extrato proveniente da *Lippia alba*.

Tabela 1: Triagem fitoquímica em extratos de *A. hispidum* e *L. alba*

Grupo químico	<i>A. hispidum</i>	<i>L. alba</i>
Alcaloides	+ ¹	+
Esteroides	- ²	-
Galataninos	+	-
Flavonoides	-	+
Taninos	+	+
Triterpenoides	+	+
Saponinas	+	+

¹Grupo químico presente (+); ²grupo químico ausente (-).

Mallmann et al. (2017) realizaram a triagem fitoquímica de extratos aquosos e hidroalcoólicos de espécie do gênero *Acanthospermum* verificando assim como no presente estudo a presença de taninos, saponina e triterpenoídes. Os autores ainda observaram a presença de compostos fenólicos e flavonoides. Abubakar et

al. (2015) observaram no estudo da composição fitoquímica do extrato da espécie *A. hispidum* além da presença de flavonoides, taninos e saponinas a presença de alcaloides, esteroides e terpenos.

Gomes et al. (2016) realizaram triagem fitoquímica de extratos etanólico de *L. alba* constando além da presença de alcaloides, flavonoides e taninos a presença de esteroides, entretanto não foi observado a presença de saponinas diagnosticada no presente estudo. Félix-Silva et al. (2012) detectaram alcaloides, taninos, saponinas, assim como também presença de gomas, fenóis, lactonas, cumarinas, catequinas e resinas.

Os grupos químicos presentes na composição dos extratos estudados estão relacionados ao metabolismo secundário das plantas. Esse metabolismo atua no objetivo de auxiliar as plantas na sua adaptação e sobrevivência no meio ambiente, atuando na proteção das plantas contra agentes agressores (LEONE, 2014). De acordo com Singh et al. (2003) a produção de metabólitos secundário é uma das mais importantes defesas vegetais contra patógenos fúngicos.

Quantificação de inibição do crescimento micelial

Os extratos apresentaram atividade antifúngica demonstrada pela inibição do crescimento micelial em relação a testemunha. De acordo com as médias apresentadas tanto para o tratamento com extrato de *A. hispidum* quanto para *L. alba* o melhor efeito de inibição foi conferido pela concentração de 20 %, sendo capaz de superar o efeito conferido pela testemunha positiva de maior dosagem (Tabela 2 e 3). Embora para o extrato de *L. alba* o melhor efeito também tenha sido obtido pela concentração de 20 %, as contrações a partir de 10% já apresentaram teve efeito superior ao da testemunha positiva de maior dosagem. Neste caso a testemunha foi melhor apenas que as concentrações de 1% e 5% (Tabela 3).

Tabela 2: Efeito de extratos de *A. hispidum* e testemunhas sobre crescimento micelial de *Alternaria solani*

Tratamentos	Médias
0,0001 mg/ mL	23.3 ^{f*}
BDA	23.3 ^f
1%	18.7 ^e
5%	17.4 ^d
10%	15.2 ^c
15%	15.0 ^c
0,001mg/mL	13.0 ^b
20%	10.4 ^a

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

Tabela 3: Efeito de extratos de *L. alba* e testemunhas sobre crescimento micelial de *Alternaria solani*

Tratamentos	<i>L. alba</i>
0,0001 mg/ mL	23.3 ^{e*}
BDA	23.3 ^e
1%	15.1 ^d
5%	11.3 ^c
0,001 mg/ mL	10.4 ^c
10%	8.9 ^b
15%	8.9 ^b
20%	3.3 ^a

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5 % de probabilidade.

Embora ambos extratos demonstraram redução no crescimento micelial do patógeno estudado, o extrato de *L. alba* obteve efeito superior ao extrato de *A. hispidum*, apresentando sua menor concentração (1%) testada, efeito igual a quarta maior concentração testada (15%) do extrato de *A. hispidum*. O percentual de redução apresentado pelo extrato de *A. hispidum* foi de 25,0 % de inibição para 1% de concentração de extratos, 36,1% de inibição para as concentrações 5%, 10% e 15% e 44,4 % de inibição para contração de 20% do extrato. Os percentuais de

inibição de crescimento micelial proporcionado pelo extrato de *L. alba* foram de 36,1, 52,7%, 63,2%, 65,2% e 80,5% respectivamente para concentrações de extratos de 1%, 5%, 10%, 15% e 20%. O percentual de inibição obtido com os tratamentos com fungicidas foram de 2,7 e 41,6 % para as doses de 0,0001 e 0,001 mg/ mL respectivamente (Figura 2 e 3).

Almeida et al. (2017) estudando potencial antifúngico de extratos de *Allium sativum* L. (alho), *Caryophyllus aromaticus* L. (cravo-da-índia) e *Zingiber officinale* (gengibre) avaliaram também concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20% no controle de *Alternaria solani*. Os extratos testados mostram inibição do crescimento micelial do patógeno, seguindo os tratamentos com extrato de alho e gengibre comportamento de inibição linear, quanto maior a concentração do extrato, maior foi o percentual de inibição alcançado, sendo o maior percentual de inibição conferido pelo tratamento com extrato de alho, que conferiu 70% de inibição em relação a testemunha. Tal comportamento linear foi observado no estudo com o extrato de *L. alba*, aumentando-se a inibição de crescimento conforme aumentou-se a concentração do extrato.

Espécies vegetais foram testadas quanto sua bioeficiência no controle *in vitro* de *Alternaria solani* por Sadana e Didwania (2015). De acordo com o estudo o extrato de *Eucalyptus obliqua* em concentração de 15% mostrou-se bastante eficiente, sendo capaz de inibir o crescimento do patógeno em 88%. Extratos de *Azadirachta indica*, *Calotropis procera*, *Datura stramonium* e *Polyalthia longifolia* também demonstraram eficiência satisfatória com percentuais respectivos de 73,7%, 79%, 82,5% e 76,7% de inibição. Estes resultados embora superiores aos obtidos neste pelo extrato de *A. hispidum*, se assemelham ao resultado fornecido pelo uso da maior concentração de *L. alba*.

Shukla et al. (2009) verificando a eficácia de óleo essencial de *Lippia alba* e seus constituintes no controle de patógenos em sementes de leguminosas constataram sua eficiência no controle de dezessete espécies fúngicas diferentes, sendo seu efeito de controle superior a efeitos de fungicida sintético Bavistin, reforçando a possibilidade de sua utilização como fungicida alternativo. A superioridade do óleo vegetal confere com os dados do presente estudo, onde ambos os extratos proporcionaram redução de crescimento superior a dosagem de fungicidas testados.

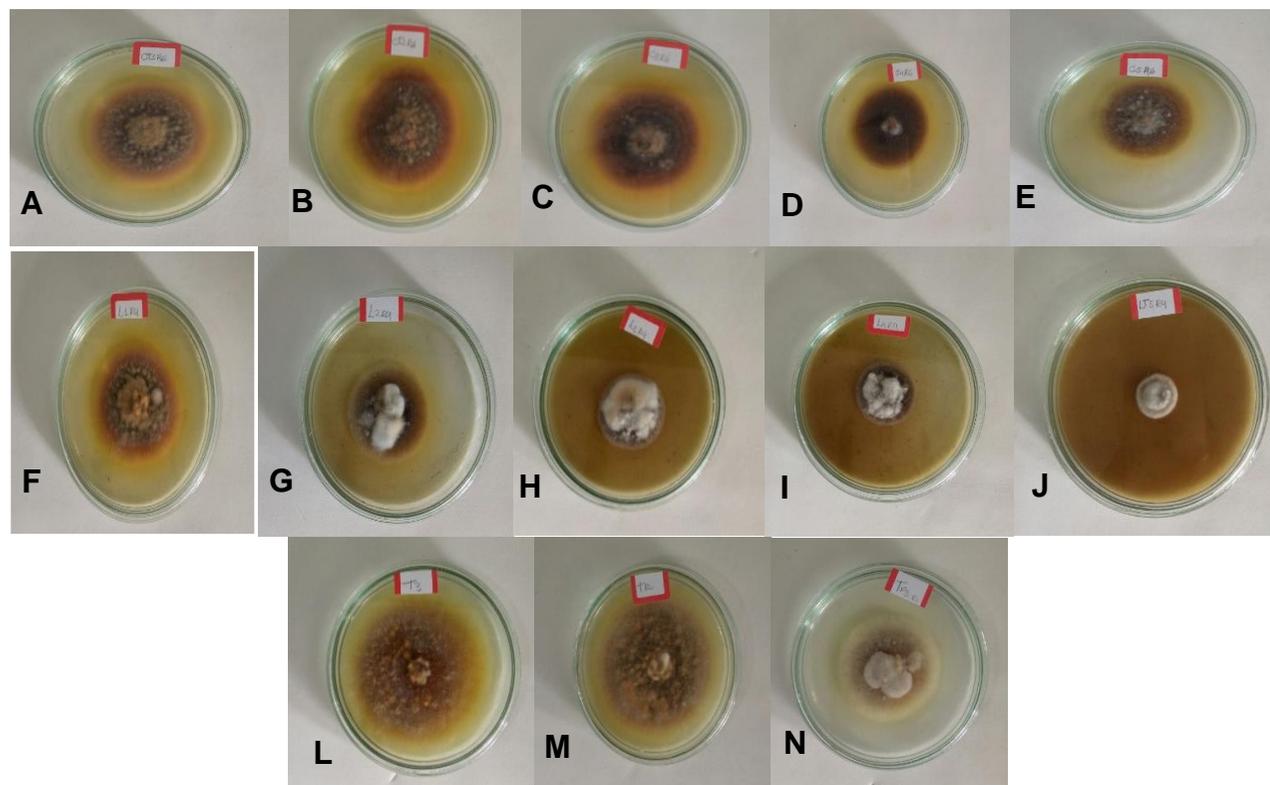


Figura 2: Efeito do extrato de *A. hispidum* (A, B, C, D, E) e *L. alba* (F, G, H, I, J) na inibição do crescimento micelial de *Alternaria solani* em concentrações 1%, 5%, 10%, 15% e 20% respectivamente. Testemunha BDA (L) e testemunhas positiva 1 (M) e 2 (N).

Atividade antibacteriana e antifúngica de extrato *A. hispidum* foram estudadas por Deepa (2004) em comparação com antibiótico Ciprofloxacina (cloridrato de ciprofloxacino) e o antifúngico Clotrimazol. As espécies bacterianas estudadas foram: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhii*, *Salmonella paratyphii A*, *Salmonella paratyphii B*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* e *coagulase estafilococo*. As espécies fúngicas: *Aspergillus niger*, *Penicillium Chrysogenum*, *Microsporum gypseum* e *Epidermophyton floccosum*. Os resultados obtidos mostraram que o extrato obteve padrão de controle comparáveis ao antibiótico e fungicida, mostrando-se eficiente, devido atividade microbiana apresentada. Estes resultados conferem com os resultados obtidos neste estudo em relação a maior dose de fungicida utilizada e maior concentração do extrato a base da mesma espécie vegetal estudada, visto houve eficiência semelhante entre eles.

A capacidade de controle de *Alternaria solani* apresentada pelos extratos vegetais estudados, pode estar ligada aos componentes químicos desses extratos, oriundos do metabolismo secundário das plantas. O metabolismo secundário vegetal devido a sua constituição fitoquímica é de grande importância na proteção de plantas contra microrganismos, possuindo extensa gama de atividade biológica que interage de diversas formas com esses microrganismos, além de apresentar propriedades antifúngicas, o que o coloca como uma alternativa a fungicidas sintéticos (SINGH et al., 2003; RIBERA; ZUÑIGA, 2012).

Flavonoides e taninos tem sido descrito na redução de crescimento de microrganismos (USMAN et al., 2007; USMAN, 2012). As saponinas com propriedades detergente e surfactantes desempenham papel de proteção as plantas contra insetos e patógenos. Sua atividade antifúngica direta é devido a sua capacidade de se complexar com esteróis das membranas fúngicas, causando deformações, poros e perda da integridade da membrana (PAPADOPOULOU, K. et al., 1999).

A maior eficiência do extrato de *L. alba* na inibição de crescimento micelial em relação ao extrato de *A. hispidum* pode estar ligada a presença do composto flavonoide, presente apenas nesse extrato. Flavonoides desempenham atividade antifúngicas pela capacidade que possuem em se complexar com proteínas

solúveis da parede celular fúngica, além do que, sua natureza lipofílica é capaz de provocar rompimentos das membranas fúngicas durante a interação, danificando a célula (ARIF et al., 2011; SALAS et al., 2011). Assim ação dos demais compostos presente no extrato somados a ação do composto flavonoide pode ter potencializado a capacidade de inibição em relação ao extrato de *A. hispidum*.

Germinação de esporos

As análises demonstraram redução na de germinação de esporos pelos extratos vegetais, sendo de 38, 39, 43, 42, e 68% para o extrato de *A. hispidum* e de 38, 43, 42, 56, e 71,5 % para o extrato de *L. alba*, ambos resultados são respectivos as concentrações de 1, 5, 10,15, e 20%. As testemunhas positivas (fungicidas) foram capazes de inibir 63 e 70 % da germinação dos esporos. De acordo com o teste Qui-Quadro houve associação entre os extratos de *A. hispidum* ($X^2= 20,4$; $p= 0,001$) e *L. alba* ($X^2= 44,1$; $p= 2,24$) com redução da germinação dos esporos.

Itako et al. (2008) estudaram plantas medicinais quanto sua atividade antifúngica e na proteção de plantas. Os autores verificaram entre outros aspectos a capacidade das espécies *Achillea millefolium* (mil-folhas), *Artemisia camphorata* (cânfora), *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim) de inibir esporulação de *Alternaria solani*. Os resultados demonstram inibição de até 99% de esporulação, percentual obtido com extrato da espécie *C. citratus* em 40% de concentração.

Compostos secundários possuem a capacidade de reduzir a germinação, pois agem sobre as células promovendo granulação citoplasmática, ruptura da membrana plasmática, desorganização dos conteúdos celulares e inibição das enzimas fúngicas o que resulta na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo (LO et al., 1996; MAZARO et al., 2013). A redução da germinação implica também na redução do número de infecção de plantas no campo, visto que impede que o tubo germinativo se dilate formado apressório penetrando no interior da célula vegetal (MAGANI et al., 2007).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABUBAKAR, A. et al. Phytochemical Screening and in-Vitro Antimicrobial Activities of the Leaf Extract of *Acanthospermum hispidum* DC (Asteraceae). **Journal of Plant Studies**, v. 4, n. 2, p. 66, 2015.

ALMEIDA, E. N.; MOURA, G. S.; FRANZENER, G. Potenciais alternativas com extratos vegetais no controle da pinta preta do tomateiro. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 12, n. 4, p. 687-694, 2017.

ARIF, T. et al. Natural products: Anti-fungal agents derived from plants. Opportunity, Challenge and Scope of Natural Products in Medicinal Chemistry, v. 81, p. 283 – 311, 2011.

AZEVEDO, L. F. P. et al. Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Costus spicatus* (Jacq.) Sw. **Rev. bras. plantas med**, v. 16, n. 2, p. 209-215, 2014.

CARTAGENA, E. et al. Germacranolides and a New Type of Guaianolide from *Acanthospermum hispidum*. **Journal of natural products**, v. 63, n. 10, p. 1323-1328, 2000.

CHAKRABORTY, Anup K.; GAIKWAD, Amit V.; SINGH, Karuna B. Phytopharmacological review on *Acanthospermum hispidum*. 2012.

DEEPA, N. et al. Anti-bacterial and anti-fungal activities of ethyl acetate extract and the isolated fraction of *Acanthospermum hispidum* DC. **Journal of Natural Remedies**, v. 4, n. 2, p. 190-194, 2004.

DEEPA, N.; RAJENDRAN, N. N. Anti-bacterial and Anti-fungal Activities of Various Extracts of *Acanthospermum hispidum* DC. **Journal of Natural Remedies**, v. 7, n. 2, p. 225-229, 2007.

DEEPA, N.; RAJENDRAN, N. N. Anti-tumor activity of *Acanthospermum hispidum* DC on dalton ascites lymphoma in mice. **Natural Product Sciences**, v. 13, n. 3, p. 234-240, 2007.

FÉLIX-SILVA, J. et al. Identificação botânica e química de espécies vegetais de uso popular no Rio Grande do Norte, Brasil. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 14, n. 3, p. 548 - 555, 2012.

GOMES, João Victor Dutra et al. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades trombolítica e citotóxica de *Cecropia hololeuca* Miq.(Urticaceae), *Lippia alba* (Mill.) NE Br. ex P. Wilson (Verbenaceae) e *Zanthoxylum rhoifolium* Lam (Rutaceae). *Infarma: Pharmaceutical Sciences*, v. 28, n. 1, p. 10-15, 2016.

GONÇALVES, F.J.T et al. Antagonist activity of the essential oil *Lippia alba* (Mill.) NE Brown (Verbenaceae) on *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 18, n. 1, p. 149-156, 2016.

ITAKO, A. T. et al. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. *Tropical Plant Pathology*, v. 33, n. 3, p. 241-244, 2008.

JOSHI, A.; BHOBE, M.; SAATARKAR, A. Phytochemical investigation of the roots of *Grewia microcos* Linn. *J Chem Pharm Res*, v. 5, n. 7, p. 80-87, 2013.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. Doenças do Tomateiro. In: KIMATI, H; AMORIN, L.; RESENDE, J.A.M. BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L.E.A. Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, p.607-626, 2005.

LEMONICA, I. P.; ALVARENGA, C. M. D. Abortive and teratogenic effect of *Acanthospermum hispidum* DC. and *Cajanus cajan* (L.) Millps. in pregnant rats. *Journal of ethnopharmacology*, v. 43, n. 1, p. 39-44, 1994.

LEONE, L. M. **Metabolic Modeling of Secondary Metabolism in Plant Systems**. 2014. Tese de Doutorado. University of Massachusetts Amherst.

LO, S.C. et al. Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v. 49, n. 1, p. 21-31, 1996.

- LOPES, C.A. Doenças do tomateiro. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, p. 15, 2005.
- MAGALLANES, C; CÓRDOVA, C; OROZCO, R. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú. **Revista peruana de Biología**, v. 10, n. 2, p. 125-132, 2003.
- MAGNANI, E. B. Z; ALVES, E; ARAÚJO, D. V. Eventos dos processos de pré-penetração, penetração e colonização de *Phakopsora pachyrhizi* em folíolos de soja. **Fitopatologia Brasileira, Brasília**, v. 32, n. 2, p. 156-160, 2007.
- MALLMANN, R. et al. Effectiveness of aqueous and hydroalcoholic extracts of *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze against diarrhea-inducing bacteria. **Brazilian Journal of Biology**, 2017.
- MAZARO, S. M. et al. Potencial de extratos à base de *Calendula officinalis* L. na indução da síntese de fitoalexinas e no efeito fungistático sobre *Botrytis cinerea*, *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, Paulínia**, v. 15, n. 2, p. 208-216, 2013.
- MAZARO, S.M. et al. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.7, p.1824-1829, 2008.
- MATHUR, S. B.; BEJARANE, L. B. Isolation of triacontane, N-butyl eicosante and N-heptacosanol from *Acanthospermum hispidum*. **Phytochemistry**, v. 15, p. 2026, 1976.
- OAKENFULL, D., SIDHU, G.S., 1989. Toxicants of Plant Origin, vol. II. CRS Press, Boca Raton, FL.
- PAPADOPOULOU, K. et al. Compromised disease resistance in saponin-deficient plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 96, n. 22, p. 12923-12928, 1999.
- PANSERA, M. R. et al. Composição química e atividade in vitro de óleos essenciais sobre a mancha púrpura da soja. **Revista Interdisciplinar de Ciência Aplicada**, v. 2, n. 4, p. 12-16, 2017.

RIBERA, A. E.; ZUÑIGA, G. Induced plant secondary metabolites for phytopathogenic fungi control: a review. **Journal of soil science and plant nutrition**, v. 12, n. 4, p. 893-911, 2012.

ROY, H, et al. Preliminary phytochemical investigation and anthelmintic activity of *Acanthospermum hispidum* DC. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 2, n. 5, p. 217-221, 2010.

SADANA, D; DIDWANIA, N. Bioefficacy of Fungicides and Plant Extracts against *Alternaria solani* Causing Early Blight of Tomato. International Conference on Plant, Marine and Environmental Sciences, v.1, n.2, p.38-42, 2015.

SALAS, et al. Antifungal activity of natural and enzymatically-modified flavonoids isolated from citrus species. **Food Chemistry**, v. 124, n. 4, p. 1411-1415, 2011.

SANTOS, J.D.G. Saponinas espirostanas no âmbito farmacêutico. 2007. 80f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 2007.

SHUKLA, R. et al. Efficacy of *Lippia alba* (Mill.) NE Brown essential oil and its monoterpene aldehyde constituents against fungi isolated from some edible legume seeds and aflatoxin B1 production. **International Journal of Food Microbiology**, v. 135, n. 2, p. 165-170, 2009.

SIMON, G. A. et. al. Potato clones selection for early blight resistance and heat tolerance. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v.56, n.1, p.031- 037, 2009.

SINIGAGLIA, C.et. al. Manejo integrado de pragas e doenças do tomateiro. Campinas: **Secretaria de Agricultura e Abastecimento**, v. 6, p. 66,2000.

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

STANGARLIN, J. R. et al. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 11, n. 3, p. 16-21, 1999.

SUMMERFIELD, A. et al. Antiviral activity of an extract from leaves of the tropical plant *Acanthospermum hispidum*. **Antiviral research**, v. 36, n. 1, p. 55-62, 1997.

TAGAMI, O. K. et al. Fungitoxicity of *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* and *Rosmarinus officinalis* in the *in vitro* development of phytopathogens fungi. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 2, p. 285-294, 2009.

TAVARES, I. B.; MOMENTÉ, V. G.; NASCIMENTO, I. R. *Lippia alba*: Chemical, pharmacological and agronomical studies. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 4, n. 1, p. 204-220, 2011.

TÖFOLI, J. G. et. al. Potato late blight and early blight: importancy, characteristics and sustainable management. **Biológico**, São Paulo, v.75, n.1, p.33-40, 2013.

TÖFOLI, J.G.; DOMINGUES, R.J.; FERRARI, J.T. *Alternaria* spp. Em oleráceas: sintomas, etiologia, manejo e fungicidas. Divulgação técnica. **Biológico**, São Paulo, v.77, n.1, p.21-34, 2015.

ZAMBOLIM, L.; VENÂNCIO, W. S.; OLIVEIRA, S. H. F. Manejo da resistência de fungos a fungicidas. **Visconde do Rio Branco: Suprema Gráfica e Editora**, v. 168, 2007.

ARTIGO 2

**EXTRATOS DE *Acanthospermum hispidum* E *Lippia alba* NA INDUÇÃO DE
RESISTÊNCIA EM TOMATEIRO¹**

¹Artigo a ser ajustado para posterior submissão ao Comitê Editorial do periódico científico .

EXTRATOS DE *Acanthospermum hispidum* E *Lippia alba* NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM TOMATEIRO

Resumo: Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial de extratos vegetais de *Acanthospermum hispidum* e *Lippia alba* no controle da pinta preta do tomateiro causada pelo patógeno *Alternaria solani*, através de indução de resistência. As concentrações de extratos vegetais estudadas foram de 1, 5, 10,15 e 20 %. Os extratos foram capazes de promover indução de resistência, ocorrendo essa indução também de forma sistêmica.

Palavras chaves: *Alternaria solani*, pinta preta, sistêmica.

EXTRACTS OF *Acanthospermum hispidum* E *Lippia alba* NA INDUCTION OF RESISTANCE IN TOMATOES

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the potential of plant extracts of *Acanthospermum hispidum* and *Lippia alba* in the control of the black peat of the tomato caused by the pathogen *Alternaria solani* through induction of resistance. The concentrations of plant extracts studied were 1, 5, 10, 15 and 20%. The extracts were able to induce resistance induction, and this induction also occurred systemically.

Keywords: *Alternaria solani*, early blight, systemic.

EXTRATOS DE *Acanthospermum hispidum* E *Lippia alba* NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM TOMATEIRO

A pinta preta ou mancha da alternaria é uma das mais frequentes doenças na cultura do tomateiro, trazendo danos diretos quando atinge o fruto e indiretos quando afeta o vigor das plantas (VALE et al., 2004; PEREIRA et al., 2013). Causada pelo fungo *Alternaria solani* a doença possui alta capacidade de destruição, o que tornou o método químico representado pelos fungicidas o principal método de controle (COELHO et al., 2011; PEREIRA et al., 2013).

O mercado mundial de agrotóxico cresceu grandemente nas últimas décadas, em 2012 atingiu crescimento de 93%. Para o mesmo ano o crescimento do mercado no Brasil cresceu 190%, sendo que em 2008 já ocupava o primeiro lugar no consumo mundial. Os fungicidas representam 14% do mercado de agrotóxicos (ANVISA, 2012).

Embora o controle químico seja mais utilizado e popular no controle de doenças de planta entre os produtores, devido a rapidez e eficiência de ação, seu uso tem sido questionado quanto aos aspectos negativos que podem trazer a saúde humana e ao meio ambiente (CARNEIRO et al., 2015). Diante disso alternativas que permitam substituir ou reduzir o uso desses produtos estão sendo estudadas. Entre tais alternativas podem ser citados o uso de mecanismos de indução de resistência em plantas e a utilização de extratos vegetais no controle de doenças (BORGES et al., 2015; MAHLO et al., 2016; SALES et al., 2016; KE et al., 2017; RASHID, et al., 2017).

Estudos desenvolvidos com indução de resistência em plantas têm demonstrando a eficiência do método no controle de fitopatógenos, através da ativação de mecanismo de defesas latentes nas plantas (OJHA; CHATTERJEE, 2012; GOZZO; FAORO 2013; YAGUCHI et al., 2017). Bertoncetti et al. (2016) investigaram efeito de diferentes concentrações de ácido salicílico na indução de resistência em tomateiro e no controle *in vitro* de *Rhizoctonia solani*, causador do tombamento de plântulas. Os resultados mostram indução de resistência na planta pela ativação da enzima β -1,3-glucanase. Entretanto os tratamentos não apresentaram efeito de controle direto sobre o patógeno.

Extratos vegetais têm demonstrado seu potencial como agentes elicitores de defesas de plantas contra patógeno. Balbi-peña et al. (2006) e Itako et al. (2008) demonstraram a eficiência de extratos vegetais na indução de resistência de plantas do tomateiro contra *Alternaria solani*, havendo redução da severidade da doença, expressos pela redução do número de lesões em relação a testemunha. Itako et al. (2008) ainda observou que a utilização de extratos aquosos bruto de *Achillea millefolium*, *Artemisia camphorata*, *Cymbopogon citratus* e *Rosmarinus officinalis* conferiu resistência sistêmica ao tomateiro, protegendo toda a planta contra o patógeno.

As espécies *Acanthospermum hispidum* e *Lippia alba* são espécies medicinais relatadas por diversos autores no controle de patógenos (AGUIAR et al., 2008; KOUTARO et al., 2009; TAGAMI et al., 2009; HAREKRISHNA et al., 2010; ARENA et al., 2011; CHAKRABORTY, 2012; NICULAU et al., 2013; TOMAZONI et al., 2016). Entretanto não há relato da utilização dessas espécies em forma de extratos com finalidade de indução de resistência em plantas contra agentes patogênicos. Assim este trabalho teve por objetivo avaliar o potencial de extratos vegetais de *Acanthospermum hispidum* e *Lippia alba* na indução de resistência em tomateiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Local de coleta

As plantas de *Acanthospermum hispidum* (carrapicho de carneiro) e de *Lippia alba* (Erva Cidreira) utilizadas no experimento para formulação dos extratos vegetais usados no estudo foram coletadas na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus de Cruz das Almas. As plantas de *Acanthospermum hispidum* foram oriundas de área de plantas espontâneas. As plantas de *Lippia alba* foram coletadas de área de cultivo da espécie.

Obtenção do extrato e triagem fitoquímica

A formulação dos extratos foi baseada na metodologia descrita por Magallanes et al., (2003). Onde folhas de carrapicho de carneiro (*Acanthospermum hispidum*) e Erva Cidreira (*Lippia alba*) foram coletadas e secas em estufa a 40 °C. Após a secagem, as folhas foram trituradas em moinho de facas e submetidas a processos de obtenção de extratos. Onde 150 mL de álcool metílico foram adicionados a 100 g das folhas trituradas mantendo-se em repouso por 72 horas abrigado de luz. Após este período a parte líquida foi filtrada e armazenada, repetindo o processo por mais duas vezes somando-se as alíquotas. Após o referido processo foi realizada a eliminação do solvente em evaporador rotativo obtendo o extrato concentrado e seco.

Segundo metodologias descritas por Joshi et al., (2013); Azevedo et al., (2014) e Iqbal et al., (2015) foram realizadas as triagens fitoquímicas dos extratos por método colorimétrico, analisando a presença de alcaloides, esteroides, flavonoides, taninos, terpenoides e saponinas.

Obtenção de isolados de *Alternaria solani* e teste de patogenicidade

Plantas de tomateiro com sintomas da pinta preta foram coletadas no município de Cruz das Almas e conduzidas ao Laboratório de Fitossanidade da UFRB, onde se procedeu o isolamento do patógeno direto das lesões. Foi utilizado

no isolamento meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar). Os isolados foram incubados a 25 °C e fotoperíodo de 12 horas.

A patogenicidade dos isolados foi confirmada por meio de ensaio em folhas destacadas. Folhas sadias foram colocadas em caixas gerbox com papel filtro umedecido com água destilada estéril. Foram adicionados discos de micélios sobre as folhas. Logo após, as caixas gerbox foram mantidas por 72 horas a temperatura de 25 °C e fotoperíodo de 12 horas (JULIATTI, et al. 2014).

Indução de resistência

A análise de resistência foi baseada na avaliação da severidade da doença. Sementes de tomate foram semeadas em bandejas de 128 células sendo transplantadas para vasos de dois litros com solo esterilizado após 29 dias de semeadura.

Para verificação de indução de resistência foi utilizado dois pares de folhas de plantas individuais por tratamento. O primeiro par de folhas foi pulverizado com extratos até o ponto de escorrimento, sendo inoculados com o patógeno 72 horas após a pulverização. O segundo par de folhas foi inoculado, mas não tratado com extratos, a fim de verificar se a resistência ocorreu de forma sistêmica ou apenas localizada. Ambos os pares foram inoculados com suspensão de esporos (10^4 conídios/ml), (ITAKO et al. 2008).

A severidade da doença foi avaliada após 15 dias de inoculação das plantas com base em uma adaptação na escala diagramática de Boff (1988), com atribuições das notas 1 para ausência de sintomas, 2 para 4% de severidade, 3 para severidade de 4,1 a 8%, 4 de 8,1 a 16%, 5 de 16,1 a 32% e 6 acima de 32% de severidade (figura 1). Foi avaliado 5 folíolos de cada folha. Os tratamentos constituíram-se de extratos nas concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20%, testemunha sem aplicação de qualquer tratamento e testemunha positiva tratada com o indutor de resistência Acibenzolar-S-metil (0,05 g/L). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com quatro repetições.

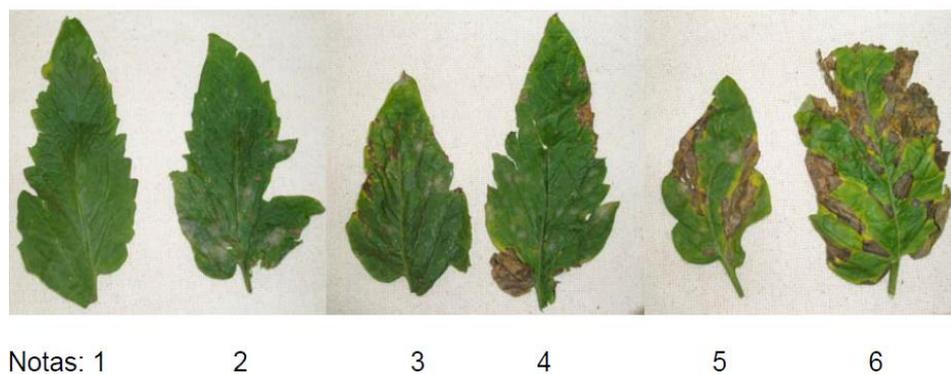


Figura 1: Adaptação de escala diagramática de Boff (1988) para avaliação da pinta preta em folíolo de tomateiro (BALBI-PEÑA, 2005).

Resultados

Triagem fitoquímica

As análises fitoquímica dos extratos demonstraram a presença de alcaloides, saponinas, galataninos, taninos e triterpenoides na composição do extrato formulado a base de *Acanthospermum hispidum*. No extrato formulado a partir da *Lippia alba* foi detectado a presença de alcaloides, flavonoides, taninos, triterpenoides e saponinas.

Os resultados obtidos correspondem com as análises realizadas por Abubakar et al. (2015) e Mallmann et al. (2017) para análise fitoquímica de extratos de espécie do gênero *Acanthospermum* e da própria espécie *Acanthospermum hispidum* quanto a presença de alcaloides, taninos, saponinas e triterpenoídes. Entretanto não foi observado pelos autores a presença de galataninos.

Félix-Silva et al. (2012) observaram compondo o extrato a base de *Lippia alba* além de alcaloides, taninos e saponinas, gomas, fenóis, lactonas, cumarinas, catequinas e resinas. Gomes et al. (2016) em análises da triagem fitoquímica de extratos etanólico de *L. alba* verificaram em sua constituição além da presença de alcaloides, flavonoides e taninos a presença de esteroides, entretanto a presença de saponinas detectada no presente estudo não foi encontrada.

Os compostos encontrados na composição dos extratos vegetais estão associados com o metabolismo secundário das plantas. O metabolismo secundário vegetal é dividido em três grupos: os terpenos, os compostos fenólicos e os alcaloides (VIZZOTTO et al., 2010). Metabolismo desse tipo têm por função defender as plantas contra microrganismos, herbívoros e raios ultravioletas, atrair polinizadores e animais que dispersam suas sementes (SIMÕES et al., 2010; SOUZA e SOUZA, 2017). Além de promover defesa contra patógeno de forma direta por atividade antimicrobiana promovem defesas indireta pela indução de mecanismos de resistência em plantas (STANGARLIN et al., 2011).

Obtenção de isolados de *Alternaria solani* e teste de patogenicidade

Através de isolamento direto foram obtidos os isolados, sendo a espécie confirmada *Alternaria solani* por meio de características morfológicas descrita para espécie (ELLIS 1971; ROTEM et al., 1994). Os isolados se mostraram patogênicos, apresentando as folhas lesões a partir do terceiro dia de inoculação. Sendo características das lesões formato circular e presença de anéis concêntricos (TÖFOLI et al., 2015).

Indução de resistência

De acordo com os resultados expressos os extratos foram eficientes na redução da doença, controlando a severidade em relação a testemunha. O número médio de lesões reduziu de acordo com aumento das concentrações dos extratos, seguindo comportamento linear (Figura 1 e 2).

Seguindo a escala de valores do diagrama de Boff, a severidade da doença variou entre os valores de 6 e 1 para as plantas tratadas com extrato de *A. hispidum* e de 5 a 1 para as plantas tratadas com extrato de *L. alba* (Tabela 1). Observou-se além da redução do número de lesões de acordo com o aumento das concentrações dos extratos, a redução do tamanho dessas lesões a partir dos terceiros tratamentos.

De acordo com as médias apresentadas houve diferença estatística entre o número médio de lesões das testemunhas, tratamento com diferentes

concentrações dos extratos de *A. hispidum* e *L. alba* e o ASM (Tabela 3 e 4). O tratamento de 20% apresentou melhor efeito em ambos extratos, se assemelhando ao indutor convencional ASM.

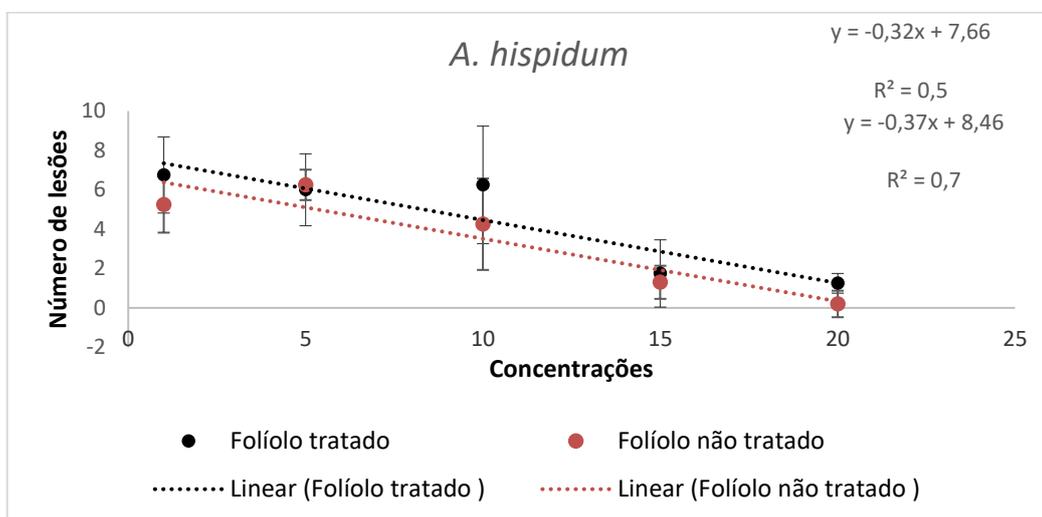


Figura 1: Efeito de extrato de *A. hispidum* na incidência de severidade da pinta preta do tomateiro em folíolos tratados e não tratados.

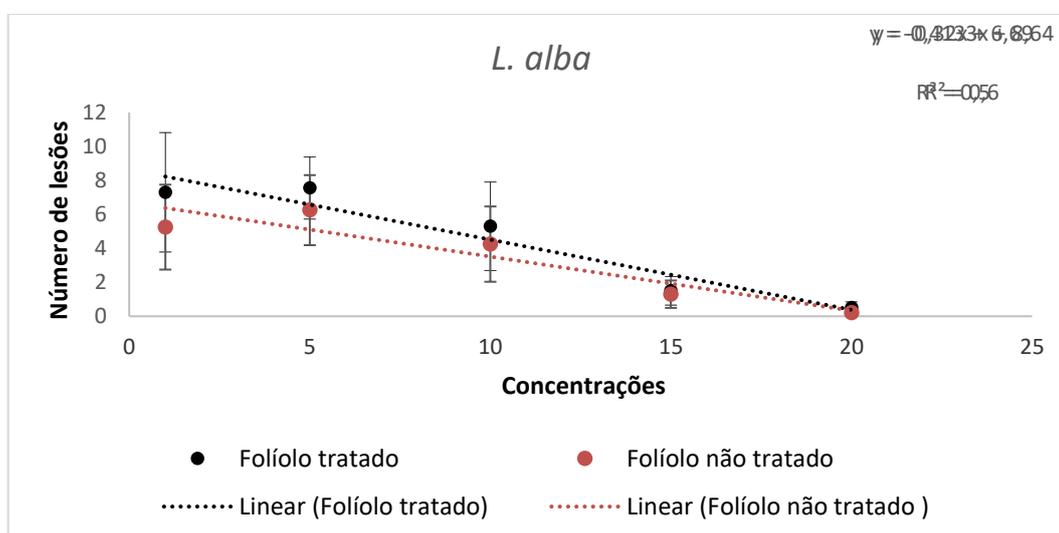


Figura 2: Efeito de extrato de *L. alba* na incidência de severidade da pinta preta do tomateiro em folíolos tratados e não tratados.

Tabela 1: Percentual de área lesionada nos folíolos tratados e não tratados do tomateiro

Tratamento	Escala	Área lesionada (%)
<i>A. hispidum</i> 1%	6	>32
<i>A. hispidum</i> 5%	5	≥ 16,1
<i>A. hispidum</i> 10%	5	≥ 16,1
<i>A. hispidum</i> 15%	4	≥ 8,1
<i>A. hispidum</i> 20%	2	4
<i>L. alba</i> 1%	5	≥ 16,1
<i>L. alba</i> 5%	5	≥ 16,1
<i>L. alba</i> 10%	4	≥ 8,1<16
<i>L. alba</i> 15%	2	4
<i>L. alba</i> 20%	1	1
ASM ¹	1	0
Testemunha ²	6	>32

¹Acibenzolar-S-metil

²Planta não tratada

Souza et al. (2015) experimentaram a atividade indutiva de extrato de *Mormodica charantia* (Melão de São Caetano) quanto a capacidade de controlar a podridão negra causada pelo patógeno *Chalara paradoxa* nas concentrações 10, 100, 500 e 1000 ppm. Os resultados mostraram a eficiência do extrato semelhante ao produto comercial acibenzolar-S-Metil aumentando a resistência com o aumento das concentrações testadas.

A redução na severidade da doença em função do aumento da concentração do extrato também foi observada por Souza et al. (2015). Os autores verificaram que o aumento da concentração de extrato de *Allamanda blanchetti* (Viúva alegre) no tratamento de mudas de couve-manteiga reduziram a severidade da alternariose, causada pelo patógeno *Alternaria brassicicola*. A maior concentração, 1000 ppm proporcionou redução de 40,4% na redução da severidade.

O controle da severidade da doença com o aumento da concentração dos extratos pode estar associado ao aumento da disposição de moléculas elicitoras de

defesas em plantas. Elicitores, moléculas que induzem respostas de defesa em plantas, atuam através de ligações entre possíveis receptores de sinais presentes na membrana das células vegetais, esses receptores reconhecem os sinais e transmite para o interior das células ativando mensageiros secundários que são responsáveis por amplificar os sinais e regular a expressão de genes específicos, estes vão determinar a ocorrência de interações compatíveis ou incompatíveis, neste último caso conferindo a resistência (RESENDE et al., 2007).

Entre os tratamentos com extratos de *A. hispidum* e *L. alba* houve diferença estatística entre os pares de folíolos tratados e não tratados apenas no uso do extrato de *L. alba* a 1% de concentração, apresentando diferença entre os pares a 5 % de significância, nesse caso o número médio de lesões apresentado pelo par não tratado foi inferior ao número apresentado pelo par tratado. As demais concentrações não apresentaram diferenças estatísticas em relação aos pares tratados e não tratados dentro de cada concentração (Tabela 2). Esses dados demonstraram que houve proteção tanto no local da aplicação dos extratos quanto fora do local, sugerindo ocorrência de indução sistêmica de resistência.

Tabela 2: Número médio de lesões entre folíolo tratado e não tratado com extrato de *A. hispidum* e *L. alba* em diferentes concentrações, testemunha e ASM¹

Tratamentos	<i>A. hispidum</i>			<i>L. alba</i>		
	tratado	não tratado	P valor	tratado	não tratado	P valor
1%	6,75	8,75	0,2	7,3	5,25	0,04*
5%	6,0	5,55	0,62	7,55	6,25	0,18
10%	6,25	5,0	0,22	5,3	4,25	0,12
15%	1,75	2,9	0,1	1,5	1,3	0,18
20%	1,25	1,0	0,64	0,5	0,3	0,18
Testemunha ¹	9,25	5,25	0,04*	9,25	5,25	0,04*
ASM ²	0,55	1,25	0,001**	0,55	1,25	0,001**

¹Planta não tratada

²Acibenzolar-S-metil

*Nível de significância a 5% pelo teste de tukey

**Nível de significância a 1% pelo teste de tukey

Tabela 3: Número médio de lesões entre testemunhas, tratamento com diferentes concentrações de extratos de *A. hispidum* e ASM

	Folíolo tratado		Folíolo não tratado	
	1	Testemunha	10.40 ^b	1%
5	1%	6.75 ^{ab}	Testemunha	8.00 ^{bc}
6	10%	6.25 ^{ab}	5%	5.55 ^{ab}
7	5%	6.00 ^{ab}	10%	5.0 ^{ab}
8	15%	1.75 ^a	15%	2.90 ^a
9	20%	1.25 ^a	ASM	1.25 ^a
10	ASM	0.55 ^a	20%	1.00 ^a

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de tukey, a 5 % de probabilidade.

Tabela 4: Número médio de lesões entre testemunhas, tratamento com diferentes concentrações de extratos de *L. alba* e ASM

	Folíolo tratado		Folíolo não tratado	
	1	Testemunha	10.40 ^c	Testemunha
5	5%	7.55 ^{abc}	5%	6.25 ^{bc}
6	1%	7.30 ^{abc}	10%	4.25 ^{bc}
7	10%	5.30 ^{abc}	1%	5.25 ^b
8	15%	1.50 ^{ab}	15%	1.30 ^a
9	ASM	0.55 ^a	ASM	1.25 ^a
10	20%	0.50 ^a	20%	0.20 ^a

*Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de tukey, a 5 % de probabilidade.

De acordo com os autores Durrant e Dong, (2004) a indução de resistência pode ocorrer tanto de modo local quanto de forma sistêmica. Neste caso a defesa é devido ao aumento de proteínas ligadas a patógenos como as glucanases, quitinases e taumatinas. Produção de enzimas oxidativas como peroxidases, polifenol oxidases e lipoxigenases, além de acúmulo de compostos com propriedades antimicrobianas como as fitoalexinas. Pode ocorrer também produção de caloses e enrijecimento das paredes celulares devido deposição de ligninas (DURRANT; DONG, 2004; CHOUDHARY et al.; 2007).

CONCLUSÃO

Os extratos de *A. hispidum* e *L. alba* se mostraram promissores no controle do patógeno *Alternaria solani* e na indução de resistência, expressando atividade antifúngica e redutora da severidade da pinta preta do tomateiro. Sendo assim tais preparados podem ser potenciais alternativas no controle de doenças de plantas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados apresentados mostram a eficiência de compostos extraído de plantas no controle de fitopatógenos, podendo ser uma alternativa ao uso de produtos existentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, M.C.S. et al. Flavonoides e outras substâncias de *Lippia sidoides* e suas atividades antioxidantes. *Química Nova*, v. 33, n. 9, p. 1877- 81, 2010

ANVISA. Nota técnica. Reavaliação toxicológica do ingrediente ativo parationa metílica, 2012.

BALBI-PEÑA, M. I. et al. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina-II. Avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 401-404, 2006.

BALBI-PEÑA, M. I. **Efeito do extrato do rizoma de Curcúma longa e solução de curcumina em *Alternaria solani* e controle da pinta preta em tomateiro. 2005. 50f.** Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Agronomia)–Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.

BERTONCELLI, D. J. et al. Salicylic acid on the induction of resistance of tomato plants and control of *Rhizoctoniasolani* Kuhn *in vitro*. **Applied Research & Agrotechnology**, v. 8, n. 1, p. 47-54, 2016.

BORGES, A. A.; SANDALIO, Luisa M. Induced resistance for plant defense. **Frontiers in plant science**, v. 6, 2015.

CARNEIRO, F. F. et al. Dossiê ABRASCO: um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde. 2015.

CHOUDHARY, D. K.; PRAKASH, A.; J, B. N. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. **Indian Journal of Microbiology**, v. 47, n. 4, p. 289-297, 2007.

COELHO, F. S. et al. Controle de *Alternaria solani* com Fungicidas na Cultura do Tomateiro. **Revista Facultad Nacional de Agronomia Medellin**, v. 64, n. 1, p. 5845, 2011.

DURRANT, W.E.; DONG, X. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology* 42:185- 209. 2004.

GOZZO, F.; FAORO, F. Systemic acquired resistance (50 years after discovery): moving from the lab to the field. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 51, p. 12473-12491, 2013.

ITAKO, A. T. et al. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, v. 33, n. 3, p. 241-244, 2008.

JULIATTI, F. C. et al. Inoculation methods to *sclerotinia sclerotiorum* reaction resistance on soybean. **BIOSCIENCE JOURNAL**, v. 30, n. 4, p. 958-968, 2014.

KE, Y.; DENG, H.; WANG, Shiping. Advances in understanding broad-spectrum resistance to pathogens in rice. **The Plant Journal**, v. 90, n. 4, p. 738-748, 2017.

LEITE, B. et al. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações planta-fungos patogênicos. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 5, p. 235-280, 1997.

MAHLO, S. M. et al. Antioxidant and antifungal activity of selected medicinal plant extracts against phytopathogenic fungi. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines (AJTCAM)**, v. 13, n. 4, p. 216-222, 2016.

OJHA, S.; CHATTERJEE, N. Induction of resistance in tomato plants against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mediated through salicylic acid and *Trichoderma harzianum*. **Journal of plant protection research**, v. 52, n. 2, p. 220-225, 2012.

PEREIRA, R. B.; DE CARVALHO, A. D. F.; PINHEIRO, J. B. Manejo da pinta preta: uma ameaça às lavouras de tomateiro a céu aberto. **Embrapa Hortaliças- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2013.

RASHID, M. et al. Induction of Systemic Resistance against Insect Herbivores in Plants by Beneficial Soil Microbes. **Frontiers in plant science**, v. 8, p. 1816, 2017.

RESENDE, M. L. V et al. Percepção e transdução de sinais para a ativação de respostas de defesa em plantas contra patógenos. **RAPP**, v 15, p. 129-176, 2007.

ROTEM, J. et al. **The genus *Alternaria*: biology, epidemiology, and pathogenicity**. American Phytopathological Society, 1994.

SALES, M. D. C. et al. Antifungal activity of plant extracts with potential to control plant pathogens in pineapple. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 6, n. 1, p. 26-31, 2016.

SOUSA, R. F.; SOUSA, J. A. Metabólicos secundários associados a estresse hídrico e suas funções nos tecidos vegetais. **Revista Brasileira de Gestão Ambiental**, v. 11, n. 1, p. 01-08, 2017.

SOUZA, G. B. et al. Efeito de extratos de *Allamanda blanchetti* no controle de *Alternaria brassicicola* em mudas de couve-manteiga. **Revista Caatinga**, v. 28, n. 3, 2015.

SOUZA, W. C. O. et al. Alternative control of *Chalara paradoxa*, causal agent of black rot of pineapple by plant extract of *Mormodica charantia*. **European journal of plant pathology**, v. 142, n. 3, p. 481-488, 2015.

STANGARLIN, J. R. et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18, 2011.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, ACR; WEBER, G. E. B. Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância. **Embrapa Clima Temperado- Documentos (INFOTECA-E)**, 2010.

YAGUCHI, T. et al. Induction of plant disease resistance upon treatment with yeast cell wall extract. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 81, n. 11, p. 2071-2078, 2017.

