



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA**  
**CURSO DE FARMÁCIA**

BRUNO COSTA RICARDO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE  
EXTRATOS VEGETAIS SOBRE *Fusarium solani*, CAUSADOR DE  
FITOPATOLOGIAS EM CULTURAS DE BATATA-DOCE (*Ipomoea  
batatas* (L.) Lam.)**

BRUNO COSTA RICARDO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE  
EXTRATOS VEGETAIS SOBRE *Fusarium solani*, CAUSADOR DE  
FITOPATOLOGIAS EM CULTURAS DE BATATA-DOCE (*Ipomoea  
batatas* (L.) Lam.)**

Monografia Apresentada à Coordenação  
do Curso de Graduação em Farmácia da  
Universidade Estadual da Paraíba –  
UEPB como requisito para obtenção do  
título de Bacharel em Farmácia.

**ORIENTADOR:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Raïssa Mayer Ramalho Catão

Campina Grande – PB  
2010

BRUNO COSTA RICARDO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE EXTRATOS VEGETAIS SOBRE *Fusarium solani*, CAUSADOR DE FITOPATOLOGIAS EM CULTURAS DE BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)**

Monografia Apresentada à Coordenação do Curso de Graduação em Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_

**PROFESSOR ORIENTADOR**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Raissa Mayer Ramalho Catão - Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Thulio Antunes de Arruda – Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Rossana Miranda Pessoa – Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

*À Deus, por tudo que me proporcionou  
até hoje...*

*A minha família, pelo amor, confiança e  
dedicação...*

## **AGRADECIMENTOS**

### **À DEUS**

*Obrigado senhor, por esse momento. Sei que a jornada ainda é longa e cansativa, mas chegar até aqui, depois de tantos obstáculos é gratificante. Olho para trás e vejo o quanto sofri, o quanto sorri e o quanto cresci. Obrigado meu Deus pelas dificuldades, pelas noites em claro estudando, pela saudade que senti de minha família e daqueles que amo, por cada lágrima e suor derramado, pois sei que sem nada disso eu não teria forças para continuar. Obrigado pela fé que me fez perceber que na vida tudo é possível, basta acreditar.*

### **AOS MEUS PAIS**

*Pelo amor que me deram e por nunca desistirem de acreditar em mim. Pelos conselhos e ensinamentos. Pela dedicação e esforço em educar seus filhos. Obrigado por tornarem o que sou. “A maior herança que herdo é a educação que me destes”. Essa vitória não seria completa sem vocês ao meu lado. Amor Incomparável, amor insubstituível...*

### **AO MEU IRMÃO**

*Junim, por muitas vezes precisei de sua ajuda e pude contar com ela todas às vezes. Obrigado por ser esse cara simples e companheiro. Você não é somente meu irmão, mas simplesmente, meu melhor amigo. Valeu por tudo!!! Você foi essencial nesta conquista.*

### **À MINHA NOIVA RAQUEL**

*Meu amor, nunca irei esquecer os momentos que vivemos durante esses cinco anos, passamos por cima de muitos obstáculos e hoje estamos aqui, juntos para reviver e comemorar mais uma etapa de nossas vidas. Você foi mais que essencial, pois sempre esteve presente, mesmo estando ausente. Amiga, companheira, namorada e noiva. Te Amo. “Sempre em algum lugar... sinto sua falta onde estiver... eu voltarei pra te amar novamente” (Always Somewhere – Scorpions).*

### **AOS QUE AMO**

*Meus avôs Chagas Ricardo e Risoleta Genuino “In memorian”, pelas boas lembranças de minha infância em Quixeramobim-Ce, e que onde eles estiverem eu sei que estarão sempre torcendo pelo meu sucesso.*

*Meus Avôs Raimundo Nonato e Elza Costa, pelo amor com netos e por dar-me essa família maravilhosa, que é a Família Costa. Sou muito grato por vocês estarem hoje participando desse momento importante de minha vida.*

*Meus tios da Família Costa, Toinho e Vânia, Elcione e Gustavo, Elionara e Walter, Ernesto e Liduína, por estarem sempre ao meu lado, em todos os momentos, especialmente naqueles mais felizes.*

*Meus tios da Família Ricardo, Walter e Marilac, Marcio e Yara, Maristela e Luciano (“In memorian”), que apesar da ausência sempre estiveram presente.*

*Meus primos, pela amizade e união, em especial Carol e Jefferson pelo acolhimento em Campina Grande e pelo carinho e atenção dada, meu muito obrigado.*

## **AOS MEUS AMIGOS**

*Thiago Anderson e Juliano, pelos anos de verdadeira amizade compartilhada. Aos amigos do Ap. 302 do NINO, Henrique Moreira, Eliael, Thulio e em especial, Cícero Diego e Jorge, pelos bons momentos de amizade vivida no apartamento, meu obrigado.*

## **AOS MESTRES**

*Professor Thulio Antunes e Raissa Mayer, meus orientadores, pela paciência e aprendizado, e por despertar em mim a pesquisa científica. À professora Rossana por fazer parte da minha banca examinadora. Aos professores: Ana Cláudia, Alessandro, Harley, Ivan, Cavalcante, Zilca, Lindomar, Socorro, Ivana, Josimar, Vera Lúcia e Karlete, meu muito obrigado pelos ensinamentos durante todos esses anos, vocês foram essenciais na minha formação profissional.*

*À Shirleyde e Adriana da Escola Agrícola em Lagoa Seca – PB pela disponibilidade do local para a pesquisa, e a Cícero Diego Almino Menezes (colaborador) pela contribuição dada a este trabalho.*

## **À TURMA**

*Conviver todos esses anos com vocês foi pra mim uma experiência incrível, nunca irei me esquecer, lembrarei do rosto de cada um. Obrigado pelos momentos de alegria e descontração, e pelos estresses também. Irei sentir saudade de tudo e de todos... Um abraço em especial para Daniel Luna, um amigo que ganhei na universidade para toda vida. Valeu por tudo Balão!!! Mãnnn...*

## **À UNIVERSIDADE**

*Agradeço à UEPB por ter sido minha segunda casa durante cinco anos de minha vida e por ter dado suporte para minha formação. Agradeço a cada um que faz parte dessa Instituição, principalmente aos que compõem o curso de Farmácia Generalista. Estou convicto que fui bem preparado para o mercado profissional.*

A Todos, o meu MUITO OBRIGADO.

“Pois tudo posso naquele que me fortalece”.  
(Filipenses 4:13)

## RESUMO

*Fusarium solani* é um fungo causador de fitopatologias em cultura de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) podendo ocasionar grandes perdas nas colheitas. O uso indevido de fungicidas e/ou outros agentes antimicrobianos induziram ao longo dos anos o fenômeno da resistência das espécies, fator determinante na necessidade premente de buscar antifúngicos eficazes, através de estudos envolvendo plantas como uma importante ferramenta na busca de novas substâncias com atividade antifúngica. Neste contexto o objetivo deste estudo foi avaliar a atividade antifúngica *in vitro* de extratos vegetais obtidos das espécies *Anacardium occidentale* L., *Anadenanthera macrocarpa* Benth., *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., *Rosmarinus officinalis* L., *Stryphnodendron coriaceum* Beth., *Ximenia americana* L. sobre uma linhagem de *Fusarium solani*. Para o estudo da atividade antifúngica, utilizou-se a linhagem fúngica previamente identificada e cultivada em placas de Petri contendo Ágar Sabouraud (DIFCO) e incubadas a 32°C/72h. Após este período de incubação, preparou-se uma suspensão fúngica (escala 0,5 de McFarland) a qual foi semeada na superfície de placas contendo Agar Sabouraud. Em seguida, foram realizadas seis cavidades (6 mm) eqüidistantes nas quais adicionou-se 50µL de cada extrato. As placas foram incubadas em estufa a 32°C/72h e após este período, realizou-se a leitura, considerando-se ativo aquele produto que apresentasse halo de inibição de crescimento. Não foi observada a presença de halos de inibição de crescimento para nenhum dos extratos testados. Estes extratos não apresentam atividade antifúngica. Entretanto, esta pesquisa abre espaço para outras envolvendo diferentes metodologias e buscando o conhecimento dos mecanismos de resistência *versus* atividade antimicrobiana, assim, contribuindo para o controle biológico na agricultura.

**Palavras-chave:** Extratos vegetais; Atividade antifúngica; *Fusarium solani*



## ABSTRACT

*Fusarium solani* is a fungus culture of plant diseases in sweet potato and may cause great losses in the harvest. Improper use of fungicides and other antimicrobial agents led over the years the phenomenon of resistance of the species. Observing the urgent need for effective antifungals is that there is the study of plants as an important tool in the search for new substances with antifungal activity. In this context, the objective of this study was to evaluate the antifungal activity in vitro of plant extracts obtained from *Anacardium occidentale* L., *Anadenanthera macrocarpa* Benth., *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., *Rosmarinus officinalis* L., *Stryphnodendron coriaceum* Beth., *Ximenia americana* L. on *Fusarium solani*. The fungus was cultured in Petri dishes containing Sabouraud agar (DIFCO) were incubated at 32°C/72h. After the seeding of the fungus on Sabouraud agar were performed six wells (6 mm) equidistant in which it was added 50µL of each extract. The plates were incubated in 32°C/72h and after this period, we carried out reading, considering that product to produce active halo of growth inhibition. Did not observe the presence of halos of growth inhibition for any of the extracts. These extracts did not exhibit antifungal to *Fusarium solani*. However, this research opens up space for other involving different methodologies and seeking the knowledge of the mechanisms of resistance versus antimicrobial activity, thus contributing to biological control in agriculture.

**Keywords:** plant extracts, antifungal activity, *Fusarium solani*.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Fluxograma dos procedimentos técnicos para a preparação dos extratos etanólicos.....	31
<b>Figura 2.</b>	Representação fotográfica do <i>Fusarium solani</i> cultivado em Agar Sabouraud.....	32
<b>Figura 3.</b>	Representação digitalizada do <i>screening</i> de atividade antifúngica dos extratos vegetais de (1) <i>Anacardium occidentale</i> L. (2) <i>Anadenanthera macrocarpa</i> Benth. (3) <i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All. (4) <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (5) <i>Stryphnodendron coriaceum</i> Benth. (6) <i>Ximenia americana</i> L. ....	34

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Informações gerais sobre as plantas utilizadas nesta pesquisa.....	30
<b>Tabela 2.</b>	<i>Screening</i> dos extratos vegetais frente ao fungo <i>Fusarium solani</i> .....	34

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

R488a Ricardo, Bruno Costa.

Avaliação da atividade antifúngica in vitro de extratos vegetais sobre *Fusarium solani*, causador de fitopatologias em culturas de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) [manuscrito] / Bruno Costa Ricardo. – 2010.

45 f.: il. color.

Digitado.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2010.

“Orientação: Profa Dra. Raïssa Mayer Ramalho Catão, Departamento de Farmácia”.

1. Fungos. 2. Atividade Antifúngica. 3. Farmácia. 4. Batata-doce. 5. Extratos Vegetais. I. Título.

21. ed. CDD 616.015

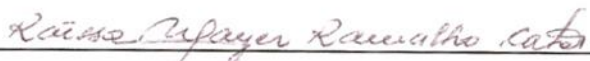
BRUNO COSTA RICARDO

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA *IN VITRO* DE EXTRATOS  
VEGETAIS SOBRE *Fusarium solani*, CAUSADOR DE FITOPATOLOGIAS EM  
CULTURAS DE BATATA-DOCE (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.)**

Monografia Apresentada à Coordenação do Curso de Graduação em Farmácia da  
Universidade Estadual da Paraíba – UEPB como requisito para a obtenção do  
título de Bacharel em Farmácia.

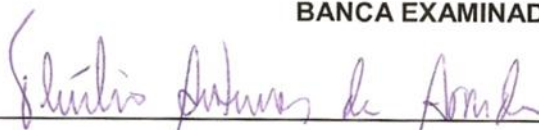
Aprovado em 25 de novembro 2010

**PROFESSOR ORIENTADOR**

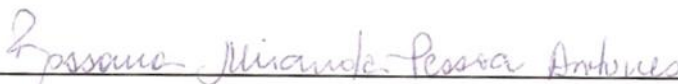


Profª. Drª Raissa Mayer Ramalho Catão - Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

**BANCA EXAMINADORA**



Prof. Dr. Thulio Antunes de Arruda – Universidade Estadual da Paraíba – UEPB



Profª. Drª. Rossana Miranda Pessoa – Universidade Estadual da Paraíba – UEPB

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	16
2.1 Geral.....	16
2.2 Específico.....	16
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
3.1 <i>Fusarium spp.</i> .....	17
3.1.1 <i>Fusarium solani</i> .....	18
3.2 Interação fungo/planta.....	19
3.2.1 Transmissão <i>F. solani</i> .....	19
3.3 Podridão da batata-doce.....	19
3.4 Plantas com atividade antifúngica.....	20
3.5 Testes de sensibilidade antimicrobiana das plantas.....	21
3.6 Resistência fúngica frente a extratos vegetais.....	21
3.7 Espécies vegetais utilizadas na pesquisa.....	22
3.7.1 <i>Anacardium occidentale L.</i> (Cajueiro).....	22
3.7.2 <i>Anadenanthera macrocarpa Benth.</i> (Angico).....	23
3.7.3 <i>Myracrodruon urundeuva Fr. All.</i> (Aroeira).....	24
3.7.4 <i>Rosmarinus officinalis L.</i> (Alecrim).....	25
3.7.5 <i>Stryphnodendron coriaceum Beth.</i> (Barbatimão).....	26
3.7.6 <i>Ximenia americana L.</i> (Ameixa do mato).....	27
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	29
4.1 Locais de realização da parte experimental.....	29
4.1.1 Preparação dos extratos etanólicos.....	29
4.1.2 Isolamento do Fungo.....	29
4.1.3 Ensaios de atividade antifúngica.....	29
4.2 Material vegetal.....	29

4.2.1 Aquisição das plantas e identificação.....	30
4.3 Obtenção dos extratos etanólicos.....	30
4.3.1 Solvente.....	30
4.3.2 Extração.....	31
4.4 Isolamento do <i>Fusarium solani</i> .....	31
4.5 Identificação.....	32
4.6 Meio de cultura.....	32
4.7 Preparo da suspensão fúngica.....	33
4.8 Determinação da atividade antimicrobiana – <i>screening</i> .....	33
<b>5 RESULTADOS</b> .....	<b>34</b>
<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	<b>35</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>37</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>38</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O estudo sistemático dos fungos tem apenas aproximadamente 200 anos, porém as manifestações práticas destes organismos eram conhecidas desde a antiguidade. Além do seu potencial de produção de doença em seres humanos, eles contribuem direta ou indiretamente para a deterioração alimentar, sendo as principais causas de doenças nos vegetais. Cerca de 100 espécies de fungos produzem doenças no homem e quase o mesmo número em animais, a maioria das quais são enfermidades superficiais da pele ou de seus apêndices. No entanto, mais de 8.000 espécies de fungos causam doenças em plantas, sendo que todas as plantas são atacadas por algum tipo de fungo, e cada um dos fungos parasitas atacam a um ou mais tipos de plantas (MURRAY *et al.*, 1992; MENEZES; OLIVEIRA, 1993; AGRIOS, 1997).

Ao longo dos últimos anos, a ocorrência de infecções fúngicas vem apresentando um aumento expressivo. O tratamento das micoses humanas não é sempre efetivo, pois os fármacos antifúngicos disponíveis produzem recorrência ou causam resistências. Além das infecções em humanos, os animais e plantas também podem ser atacados esporadicamente por fungos (FENNER *et al.*, 2006).

Os fungos do gênero *Fusarium* Link ex Fr. têm uma ampla distribuição geográfica, tendo espécies cosmopolitas e outras com ocorrência restrita a determinados ambientes, ocorrendo, predominantemente, nas regiões tropicais e subtropicais, embora algumas espécies tenham uma íntima associação com os hospedeiros. Compreende também uma grande quantidade de espécies que são conhecidas por causar doenças em humanos, animais e em vegetais. Este gênero era considerado até recentemente como agente de micotoxicoses e de infecções superficiais. Entre as infecções superficiais, a ceratite fúngica é provavelmente o tipo mais freqüente. A maioria das espécies deste gênero habita a parte subterrânea, raízes das plantas e compostos orgânicos. São importantes fitopatógenos causando lesões nos galhos e raízes (BURGUESS, 1981; ALEXOUPoulos, 1996; MARTÍNEZ, 2004).

Na agricultura, o gênero *Fusarium spp.* é responsável por diversas fitopatologias, dentre elas a podridão da batata-doce, causada pela espécie *Fusarium solani* (OLIVEIRA, A. P. de *et al.*, 2006). Na região Nordeste a batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) ocupa alta importância social, na geração de emprego e



renda, assegurando o trabalho do homem no campo. O Estado da Paraíba é considerado o maior produtor nordestino e o quarto em nível nacional. A batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) é a cultura mais desenvolvida nas microrregiões do brejo e litoral Paraibano (SOARES *et al.*, 2002).

Para o controle da doença são usadas algumas medidas de controle como uma boa nutrição das plantas e o uso de variedades com alguma resistência. As cultivares de batatas-doces atualmente disponíveis são suscetíveis ao fungo *Fusarium solani*, sendo necessário à adoção do controle químico para minimizar as perdas na produção e na estocagem. O uso de fungicidas ou outros agrotóxicos se esbarra na legalidade, pelo fato de não haver, até o momento, nenhum produto registrado para essa cultura. (SILVA; LOPES; MAGALHÃES, 2001).

Embora a maioria dos antifúngicos existentes no mercado seja de origem sintética, o estudo de produtos naturais voltou a receber a atenção dos cientistas. Desde o final da década de 1970 que a Organização Mundial de Saúde (OMS) tem incentivado o estudo de plantas conhecidas como medicinais, com o objetivo de avaliar cientificamente os seus benefícios (LOGERCIO *et al.*, 2005).

As propriedades antimicrobianas de substâncias extraídas de plantas vêm sendo comprovadas pela ciência com estudos relevantes realizados em diversos países, entre eles o Brasil. Neste sentido, os extratos obtidos de espécies vegetais brasileiras mostram-se eficientes no controle do crescimento de microorganismos *in vitro* e *in vivo* (PESSINI *et al.*, 2003; PEREIRA *et al.*, 2004). De acordo com Fenner *et al* (2006), foram verificadas no Brasil 409 espécies vegetais utilizadas como possíveis fungicidas.

Na cultura da batata-doce, a Podridão-radicular-seca ou podridão da batata-doce causada pelo fungo *Fusarium solani* pode causar perdas de até 25% no campo e de 60% na pós-colheita. O uso de fungicidas e outros agentes antimicrobianos acabaram por produzir ao longo dos anos o fenômeno da resistência das espécies. Através de seu processo reprodutivo em que os indivíduos mais aptos sobrevivem, acabam deixando descendentes que são imunes ao produto aplicado. A busca de substitutos para estes produtos encontra nas pesquisas que envolvem as plantas medicinais e seus subprodutos, uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor. O uso de extratos vegetais, por exemplo, têm sido fonte de inúmeras pesquisas que validam sua eficácia (HERNANDEZ *et al.*, 1998; SOUZA *et al.*, 2002; MORAIS, 2004).

A realização desta pesquisa justifica-se pela necessidade premente de encontrar substâncias com atividade antifúngica. A partir de estudos com plantas medicinais utilizadas como uma importante ferramenta no descobrimento de novos fármacos.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Geral

Avaliar a atividade antifúngica *in vitro* de extratos vegetais sobre *Fusarium solani*, causador de fitopatologias em culturas de batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.).

### 2.2 Específico

- Isolar e identificar o *Fusarium solani* a partir de batatas-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) infectadas.
- Obter extratos vegetais das seguintes plantas: *Anacardium occidentale* L. (Cajueiro), *Anadenanthera macrocarpa* Benth. (Angico), *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira), *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim), *Stryphnodendron coriaceum* Beth. (Barbatimão), *Ximenia americana* L. (Ameixa do mato)
- Realizar *Screening* da atividade antimicrobiana dos extratos frente ao *F. solani*.
- Determinar a Concentração Inibitória Mínima – CIM e Concentração Fungicida Mínima – CFM dos extratos que se apresentarem ativos frente ao *F. solani*.

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 *Fusarium spp.*

Fungo imperfeito descrito pela primeira vez em 1809. É considerado um fungo comum entre os patogênicos em ambientes. O gênero *Fusarium* não é considerado patogênico para seres humanos saudáveis, entretanto, pode ser patogênico em condições específicas, como no caso de pacientes imunodeficientes, podendo se propagar localmente ou resultar em micoses profundas (ARIMA *et al.*, 2003).

O gênero *Fusarium* é caracterizado pelo seu crescimento rápido, formando colônias apresentando diferentes colorações, variando da cor violeta à cor púrpura escura ou da cor creme pálido à cor laranja. Apresenta micélio aéreo e difuso. A maioria das espécies de *Fusarium* é composta por fungos de solo com distribuição cosmopolita é ativo na decomposição de substratos celulósicos das plantas, sendo que alguns isolados são parasitas das plantas (DOMSCH *et al.*, 1980).

Apresentam duas principais formas de esporos: os microconídios e os macroconídios. Os microconídeos são unicelulares e uninucleados, os macroconídios, mais comuns, são multicelulares. Porém, cada célula tem somente um núcleo (MARTINS, 2005).

Segundo Puhalla (1981), os estágios sexuais de *Fusarium* são ascomicetos, o esporo sexual é o ascósporo. Alguns estados perfeitos têm ascósporos bicelulares e são alocados ao gênero *Nectria*. Cada célula de um ascósporo bicelular é uninucleada e ambos os núcleos são geneticamente idênticos.

A tradicional classificação e identificação de espécies no gênero *Fusarium* é baseada em características morfológicas como: morfologia da colônia de cultura monospórica de isolados em meios de cultura específicos, pigmentação e taxa de crescimento, especificidade de hospedeiros e perfil de metabólitos secundários (THRANE, 1990).

*Fusarium* é um dos gêneros mais estudados devido aos sérios problemas econômicos ocasionados pela sua ação como fitopatógeno e ampla distribuição geográfica. Muitas espécies causam o apodrecimento de estoques e são importantes produtoras de toxinas. Os estudos referentes à distribuição populacional do *Fusarium spp.* limitam-se a áreas de grandes culturas, como soja e trigo, possivelmente por serem o principal alvo do mercado de agroquímicos (ETHUR *et al.*, 2008).

### 3.1.1 *Fusarium solani*

*Fusarium solani* é um fungo do solo com ampla gama de hospedeiros que apresenta variação em sua morfologia, fisiologia e patogenicidade (OLIVEIRA; COSTA, 2002). É largamente encontrado na agricultura. Infecta cultivares como soja, feijão, mandioca, batata (*Solanum tuberosum* e *Ipomoea batatas* (L.) Lam.), entre outros, causando patologias nas raízes e frutos. (BRASILEIRO *et al.*, 2004). É um fitopatógeno habitante do solo e causador de podridões de raiz. Esse patógeno é importante devido aos danos econômicos causados no setor agrícola e por sua distribuição cosmopolita (ETHUR *et al.*, 2007).

A fusariose, também conhecida por podridão do pé e podridão das raízes é a principal doença da cultura, de ocorrência restrita ao Brasil. As medidas que vêm sendo adotadas para o controle da fusariose, obtenção de variedades resistentes e aplicação de fungicidas, têm-se mostrado onerosas ou pouco eficientes (MENEZES, 2010). É um dos fungos mais resistentes ao arsenal moderno de antifúngicos, em particular, *F. solani* é a espécie mais resistente dentro do gênero (LIONAKIS; KONTOYIANNIS, 2004).

Como um patógeno oportunista, ele pode causar micoses superficiais em humanos e animais (BRASILEIRO *et al.*, 2004). Uma das razões para o crescente número de infecções por *Fusarium solani* pode ser a modernização da agricultura. O *Fusarium* spp. tem uma relação antagônica com bactérias que não podem se propagar assim no solo com poucas substâncias orgânicas. Os fertilizantes químicos (fertilizantes inorgânicos) tornaram-se populares, assim, esta pode ser a razão pela qual as infecções por *Fusarium solani* têm aumentado (ARIMA *et al.*, 2003).

A intoxicação por batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) contaminada com *Fusarium solani* causa anorexia, taquipnéia, hiperpnéia, taquicardia, dispnéia, tosse, leucopenia, entre outros problemas (FIGHERA, 2003). No entanto, os eventos moleculares que controlam a produção de toxinas, têm ainda de ser determinada, e não houve estudos para analisar se essas micotoxinas são especificamente expressas na definição de doença invasiva. Além disso, *F. solani* foi relatado por produzir a ciclosporina, que é conhecido por suprimir a ativação dos linfócitos T e produção de interleucina-2, inibindo assim os componentes críticos da resposta imune celular (NELSON; DIGNANI; ANAISSIE, 1994; LIONAKIS; KONTOYIANNIS, 2004).

### **3.2 Interação fungo/planta**

As interações entre as plantas e os fungos patogênicos são de extremo interesse para a humanidade, uma vez que grande parte da economia mundial tem por base a utilização de espécies vegetais, as quais podem sofrer sérios danos em virtude do ataque de patógenos (MARTINS, 2005).

A devastação de uma espécie cultivada devido à ação de fungos pode ter como conseqüência não somente a fome das pessoas que dependem diretamente do cultivo desta espécie, mas pode envolver também a mudança de costumes de toda uma nação (BARBIERI; CARVALHO, 2001).

Os fungos patogênicos demonstram uma enorme diversidade no modo pelo qual interagem com seus hospedeiros, sendo que enquanto alguns podem viver por longos períodos em tecidos mortos do hospedeiro ou saprofiticamente no solo, outros dependem completamente das células vivas de seu hospedeiro, considerados como parasitas obrigatórios (BURDON; SILK, 1997).

Apesar de a grande maioria das plantas serem resistentes à maior parte dos patógenos, por possuírem um amplo arranjo de componentes constitutivos de defesa e/ou de bloqueio físico da entrada de microorganismos, muitas plantas cultivadas são susceptíveis a um determinado número de patógenos (BARBIERI; CARVALHO, 2001).

#### **3.2.1 Transmissão do *F. solani***

A transmissão de patógenos pode ocorrer pela presença de esporos, estruturas de sobrevivência, ou resíduos de colheita contendo inóculo. A importância dos clamidosporos como unidades de sobrevivência, infecção e disseminação têm sido demonstrada. A probabilidade dos clamidosporos de *F. solani* presentes em partículas de solo, serem transportados na massa de grãos e acarretarem infecção direta das sementes, devido ao desenvolvimento de micélio do patógeno nos tecidos do hospedeiro, já foi comprovada (BARLADIN *et al.*, 2005).

### **3.3 Podridão da batata-doce**

O gênero *Fusarium* é responsável por diversas fitopatologias, dentre elas a podridão da batata-doce, causada pela espécie *Fusarium solani* (OLIVEIRA, A. P. de *et al.*, 2006). Os sintomas são o apodrecimento das raízes secundárias da planta em solo úmido, necrose da base da planta e clorose interneval das folhas (OLIVEIRA; COSTA, 2002).

*Fusarium spp.* causa manchas e podridões nas raízes e na base das brotações, quando se usa o sistema de produção de mudas em canteiros. Em pós-colheita, causa freqüentemente manchas e podridões. O *Fusarium oxysporum f. sp. batatas* pode causar infecção vascular, independentemente da contaminação das batatas-semente, causando amarelecimento das folhas e murchas. Os vasos se tornam escurecidos. O fato de a batata-doce ter sido uma das hortaliças mais cultivadas em períodos quando não se utilizavam agrotóxicos, é um comprovante de sua resistência natural a praga e doenças. Quando as raízes são danificadas por fungos patogênicos, tais como o *Fusarium solani*, a planta reage ao ataque, produzindo uma variedade de sesquiterpenos que tornam o tecido vegetal amargo e com odor forte (SILVA *et al.*, 2001).

### **3.4 Plantas com atividade antifúngica**

As informações sobre o uso e as virtudes terapêuticas das plantas medicinais foram sendo acumuladas através dos séculos e a utilização de suas propriedades representa uma forma de tratamento e cura das doenças (DANTAS; GUIMARÃES, 2007). Baseando-se no conhecimento empírico sobre as propriedades terapêuticas das plantas medicinais é que são desenvolvidos alguns medicamentos no tratamento de diversas patologias (SARTORI, 2005).

Estudos etnobotânicos são de grande valia na catalogação de espécies vegetais, associando-as com seu uso medicinal pela população. Fenner *et al.* (2006) catalogou 409 espécies vegetais utilizadas no tratamento de infecções fúngicas, sendo estas, distribuídas em 98 famílias. Entre as famílias as quais pertencem as 10 espécies mais citadas, encontramos a família Fabaceae, seguida por Asteraceae e Lamiaceae. Dentre as dez espécies mais utilizadas pode-se citar a nativa *Anacardium occidentale* L.

### 3.5 Testes de sensibilidade antimicrobiana das plantas

Os testes de sensibilidade antimicrobiana podem ser realizados com qualquer micro-organismo, quando se deseja aferir a susceptibilidade *in vitro* de micro-organismos patógenos frente a agentes antimicrobianos, sendo mais utilizado o método de difusão em meio sólido. Para fungos, que possuem um crescimento rápido, o método de difusão em Agar é o mais utilizado (NCCLS, 2002).

Muito embora os testes de sensibilidade *in vitro*, para fungos, não têm sido empregados corriqueiramente, eles são de grande valia para avaliação da resistência destes micro-organismos, sendo úteis no controle da terapêutica antimicótica para pesquisa de novas substâncias alternativas para o tratamento, como por exemplo, a utilização de extratos vegetais (OLIVEIRA, A. P. de *et al.*, 2006).

Os estudos envolvendo testes de sensibilidade antimicrobiana de vegetais, utilizam diversas partes da planta (folhas, frutos, sementes, cascas, caule, seivas, resinas e raízes), além de várias formas de produção das substâncias derivadas das mesmas, como os extratos aquosos, hidroalcóolicos, óleos essenciais (VALVERDE, 2007). Os princípios gerais para a obtenção de produtos vegetais biologicamente ativos segue protocolos semelhantes (FILHO; YUNES, 1998).

A ação de substâncias vegetais utilizadas em testes de sensibilidade microbiológica está associadas com uma intrincada relação de sinergismo entre as diversas substâncias que integram os extratos brutos, conferindo a estas uma ação biológica efetiva (VASCONSELOS *et al.*, 2002).

### 3.6 Resistência fúngica frente a extratos vegetais

O principal ativo dos extratos vegetais que confere a sua atividade antifúngica é uma substância fenólica solúvel em água que apresenta a habilidade de formar complexos com alcalóides, gelatina e outras proteínas, conhecida por tanino. Segundo Santos & Mello (2000), os taninos são ésteres de um açúcar (ou poliol) e um número variável de moléculas de ácidos fenólicos. O açúcar é normalmente a  $\beta$ -D-glucose e o ácido fenólico trata-se de ácido gálico.

Em relação às propriedades antimicrobianas dos taninos, muitos fungos, bactérias e leveduras são resistentes aos taninos e podem crescer e se desenvolver



na presença destes, como: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Bacillus cereus*, *Corynebacterium* sp, *Candida* sp e *Pichia* sp (BHAT *et al.*, 1998). Entretanto, os micro-organismos mais estudados são os fungos filamentosos, entre eles *Aspergillus* e *Penicillium*. Adicionalmente, também as linhagens de *Fusarium* e *Trichoderma* (LEKHA; LONSANE, 1997). A degradação dos taninos pode se dá através de bactérias, fungos e tanase microbiana (BATTESTIN *et al.*, 2004).

Tanino acil hidrolase (TAH) conhecida como Tanase (EC 3.1.1.20) é uma enzima que hidrolisa ésteres e ligações laterais de taninos hidrolisáveis produzindo glicose e ácido gálico. Uma enzima extracelular, induzível, produzida na presença de ácido tânico por fungos, bactérias e leveduras (BATTESTIN *et al.*, 2004). O meio microbiológico é a fonte mais importante de obtenção da tanase microbiana, uma vez que as enzimas produzidas desta forma são mais estáveis (MACEDO *et al.*, 2005).

Estudos compararam a produção da enzima TAH por várias espécies de fungos, encontrando *Fusarium solani*, *Trichoderma viride* e *Aspergillus fischerii* como os melhores produtores da enzima do que o *Aspergillus niger*, a linhagem mais utilizada e caracterizada como a melhor produtora de TAH (BAJPAI; PATIL, 1997). Se os taninos são parte do sistema de defesa vegetal contra os micro-organismos, a produção de tanase pode ser considerada como parte do contra-ataque microbiano. Tal ataque inclui estratégias como a produção de enzimas contra os taninos, capazes de hidrolisar ésteres e ligações, conferindo resistência ao micro-organismo (SCALBERT, 1991).

### **3.7 Espécies vegetais utilizadas na pesquisa**

#### **3.7.1 *Anacardium occidentale* L. (Cajueiro)**

A planta *Anacardium occidentale* Linn. pertencente à família Anacardiaceae, com mais 12 espécies relacionadas ao gênero *Anacardium*, é conhecida popularmente como cajueiro. É originária do Brasil, e utilizada na medicina tradicional, principalmente no Nordeste brasileiro com efeitos terapêuticos como: aliviar dor de dente, antiinflamatório para gengiva e garganta, bronquites, artrites, cólicas intestinais, icterícia, contra diabetes, asma e até mesmo usado como afrodisíaco (MORAIS *et al.*, 2005; AGRA *et al.*, 2007).

A casca e as folhas têm grande valor de mercado como alimento e a sua casca é utilizada na medicina e tem aplicações nas indústrias de plásticos e resinas, em razão de seu conteúdo ser composto de fenólicos (SHULTES; RAFFAU, 1990)

Na literatura encontram-se atividades farmacológicas comprovadas, como sendo o cajueiro uma planta antiinflamatória, antidiabética, inibidor da enzima acetilcolinesterase e substâncias isoladas do fruto demonstraram ser inibidora de tirosinase (KUBO *et al.*, 1994).

O extrato da casca do caule de *Anacardium occidentale* L., que é largamente distribuída no Nordeste brasileiro, possui atividade antimicrobiana em diferentes organismos como *Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Salmonella typhi* (LAURENS *et al.*, 1992).

Estudos realizados por Melo *et al.* (2006) mostraram que cepas bacterianas de *Streptococcus mitis*, *S. mutans* e *S. sanguis*, foram susceptíveis à ação do extrato do caule *A. occidentale*.

### **3.7.2 *Anadenanthera macrocarpa* Benth. (Angico)**

A espécie *Anadenanthera macrocarpa* Benth é uma planta típica do Nordeste do Brasil (BARBOSA, 1991), bastante representativa nas caatingas, com utilização muito diversificada: extração de tanino, uso na medicina popular, fabricação de móveis, forragens das folhas fenadas, ornamentação e carvão (CÂNDIDO; GOMES 1996).

As folhas são miúdas e em palmas, flores amarelas e sem cheiro, fruto em vagens pequenas, chatas, compridas e de sementes pequenas. As folhas e galhos secos são venenos para o gado (CARVALHO, 1994; FERNANDES, 1990).

Os índios utilizavam o pó das sementes torradas de Angico como inebriante, aspirando pelo nariz, produzindo delírios e sensações diversas. Como o tratamento do pó com água fervendo produz espuma acredita-se ser a saponina o princípio ativo deste pó. O uso provoca escoriações no septo nasal e nas mucosas da boca (FREISE, 1933).

As partes usadas como remédios são: a goma e a casca. A casca do angico é inodora e de sabor adstringente e um tanto amargo. Quanto as suas propriedades terapêuticas, a casca é usada como tônico, depurativo, hemostático, adstringente. Usa-se nas contusões, nas debilidades, inapetência, raquitismo, tuberculose e

hemorragias uterinas. O xarope da casca é empregado no tratamento das vias respiratórias (OLIVEIRA, 2005).

Quimicamente é constituído por: alcalóides indólico (óxido de N, N-dimetiltriptamina); esteróides (palmitato de  $\delta$ -sitosterol e  $\delta$ -sitosterol); flavonóides (3,3',4',7,8-pentahidroflavona); triterpenóides (lupenona e lupeol) e derivados fenólicos (3,4,5-dimethoxidalbergiona, dalbergiona e kuhlmannia) (AGRA, 1996).

Desmachelier *et al.* (1999), verificaram a atividade dos extratos metanólicos de espécies da caatinga como antioxidantes frente a radicais livres. O extrato aquoso das cascas de *A. macrocarpa* foi o mais ativo, suprimindo inclusive o radical hidroxil, que é o mediador da degradação do DNA.

A atividade tóxica foi observada por Brito *et al.* (2000) em coelhos e por Tokarnia *et al.* (1991) em bovinos após a ingestão de folhas frescas e dessecadas, causando intoxicação cianídrica.

### **3.7.3 *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (Aroeira)**

A aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All) é uma Anacardiaceae de ocorrência natural desde o Ceará até a Argentina e o Paraguai, sendo encontrada em formações vegetais de caatinga, cerrado e floresta pluvial. A madeira é pardo-avermelhada, com sabor adstringente, muito dura e imputrescível, sendo preferida para utilização na indústria civil. A casca é subdividida em placas nos troncos mais velhos, sendo íntegra nas árvores jovens, encerrando 15% de tanino, usado na indústria de curtume (ANDRADE *et al.*, 2000).

No Nordeste do Brasil, especificamente no Estado do Ceará, popularmente, usa-se a entrecasca da aroeira, sob forma de extrato aquoso ou alcoólico, ou simplesmente de cozimentos, como antiinflamatório para varias afecções, principalmente ginecológicas (MENEZES *et al.*, 1985; MELLO, 2007).

O extrato hidroalcoólico e o aquoso são feitos a partir da entrecasca da aroeira e os estudos químicos e farmacológicos têm mostrado efeitos antiinflamatórios, cicatrizantes, antiulcerogênicos, antihistamínicos, antibradicininas e analgésicos (BANDEIRA, 1993). A *Myracrodruon urundeuva* Fr. All possui um crescente uso farmacológico, pois na sua entrecasca foram constados sete componentes fitoquímicos, dos quais dois chalconasdiméricas naturais, que

possuem a propriedade de antiinflamatório e foram denominadas Urundeuveína A e B (VIANA *et al.*, 1995).

Menezes (1985) estudou as propriedades farmacológicas gerais da entrecasca da aroeira e observou que o extrato hidroalcoólico da entrecasca apresentava potente atividade antiinflamatória em modelos de inflamação aguda.

Mello (2007) em estudo, concluiu que o extrato aquoso de aroeira a 20% diminuiu a concentração bacteriana em fraturas expostas induzidas em mandíbulas de coelho.

### **3.7.4 *Rosmarinus officinalis* L. (Alecrim)**

Na região Nordeste do Brasil, as folhas de *Rosmarinus officinalis* Linn. (alecrim) tem sido utilizada popularmente com propriedades anti-hipertensiva e digestiva. É um arbusto aromático de pequeno porte da família Lamiaceae, cujas folhas abrigam pequenas glândulas contendo óleo aromático. O alecrim é uma planta caseira, usada como flavorizante em alimentos e bebidas, como também em cosméticos. Possui ação hepatoprotetora, colagoga, anti-radicais livres, anticancerígena, antiespasmódica, diurética, bactericida e fungicida. (BOTSARIS, 2006; SILVA *et al.*, 2008).

Seu óleo essencial é constituído por hidrocarbonetos monoterpênicos, ésteres terpênicos, linalol, verbinol, terpineol, 3- octanona e acetato de isobornila. Os terpenóides são representados pelo carnosol, ácidos carnosílico, oleânico, ursólico, entre outros. Os flavonóides incluem diosmetina, diosmina, gencuanina, luteolina, hispidulina e apigenina. Apresenta ainda os ácidos rosmarínico, caféico, clorogênico, neoclorogênico e labiático (ALONSO, 1998).

No processo de extração, é utilizada como solução extratora, uma solução hidroalcoólica a 70% v/v por se tratar de uma planta aromática, rica em óleos essenciais, visando à obtenção de todos os componentes químicos do alecrim durante a maceração (SILVA *et al.*, 2008).

Dentre as ações farmacológicas de *R. officinalis* tem-se observado atividade antimicrobiana sobre fungos e bactérias Gram positivas e Gram negativas. Foi relatado atividade frente a *Staphylococcus aureus*, *Vibrio colere*, *Escherichia coli*, *Corinebacterium* spp., *Lactobacillus* spp., *Pseudomonas fluorensens*, *Rhodotorula glutinis* e *Kluyveromyces bulgaricus* (NEWALL *et al.*, 2002), *Micrococcus luteus*,

*Salmonella* spp. e *Listeria monocytogens* (ALONSO, 1998). Porém, poucos estudos relatam o efeito antimicrobiano do extrato vegetal do alecrim sobre o fungo *Fusarium solani*.

Com relação a dados publicados, destaca-se a atividade antifúngica dos óleos voláteis, presentes em *Rosmarinus officinalis* e *Schinus molle* e a atividade de defesa contra fitopatógenos encontrada para proteínas de *Phytolacca americana* e *Mirabilis jalapa*. Os óleos voláteis têm sua atividade anti-séptica reconhecida e normalmente atribuída à presença de compostos fenólicos, aldeídos e álcoois: citral, geraniol, linalol e timol têm alto poder anti-séptico, superior ao do próprio fenol. Os óleos voláteis da família Lamiaceae, a qual pertence *Rosmarinus officinalis*, apresentam grande importância econômica e várias espécies são cultivadas para utilização na indústria de alimentos, cosméticos e, também, para fins medicinais (SIMÕES *et al.*, 2003).

### **3.7.5 *Stryphnodendron coriaceum* Beth. (Barbatimão)**

É uma árvore mediana comum dos tabuleiros litorâneos e nos cerrados, com folhas compostas pinadas, folíolos pequenos; As flores se apresentam em pequenas espigas terminais e axilares; frutos, vagens achatadas torcidas e reunidas em uma pequena penca (MATOS, 1997). A madeira tem o cerne rubro com laivos escuros, de consistência dura (CAMARGO, 1998).

Os seus constituintes químicos são na sua maioria taninos (25 a 30%) (PANIZZA *et al.*, 1988), matéria corante vermelha, óleos essenciais, resinas e mucilagens (CAMARGO, 1998; COIMBRA, 1994; LIMA; AMORIM, 1998).

Os seus frutos são tóxicos quando ingeridos por bovinos (TOKARNIA, *et al.* 1991). Matos (1997) cita a sua ação hemostática e adstringente. Matos (1999) confirma a ação anti-hemorroidal local.

A ação cicatrizante, antiséptica e antidiarréica foi confirmada por Camargo (1998); Jorge Neto *et al.*, (1996); Panizza *et al* (1988) Silva, (1996); possivelmente pela presença de compostos fenólicos como os taninos. Os taninos possuem ação fungicida e bactericida devido às suas complexações com proteínas (BEART; LILLEY; HASLAN, 1985; SANTOS; MELLO, 2000).

Carvalho *et al.* (2000) constatou uma redução da incidência da fusariose do abacaxizeiro causada pelo fungo *Fusarium subglutinans* de 30,2% no tratamento

testemunha para 7,6% utilizando aplicações de extratos aquosos da casca da árvore barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* L.) em substituição a aplicação de fungicidas químicos durante o período de abertura das flores.

### **3.7.6 *Ximenia americana* L. (Ameixa do mato)**

*Ximenia americana* é comumente encontrada na África, Índia, Nova Zelândia, América Central e América do Sul. É caracterizada como arbusto de 3-4 metros de altura ou árvore pequena espinhosa, de casca fina, avermelhada ou cinza, lisa ou pouco rugosa e com folhas pequenas (MATOS, 2007).

É uma planta cosmopolita tropical com ocorrência silvestre, inclusive nos tabuleiros litorâneos do nordeste do Brasil, além de ser bastante utilizada na Nigéria para fins medicinais, também é utilizada na medicina popular para o tratamento da dor de estômago, sífilis, reumatismo, câncer e infecções da boca (BRASILEIRO *et al.*, 2008).

As suas sementes são consideradas purgativas e muito saborosas. Possuem um óleo viscoso, o qual é usado como tempero. As flores desempenham um importante papel na indústria de perfumaria (BRAGA, 1976). A sua casca, avermelhada e lisa, apresenta diversas atividades e vem sendo usada para diversos fins tais como: tratamento da lepra, malária, dor-de-cabeça, moluscicida, infecções da pele, cicatrização, hemorróidas e inflamações das mucosas. A ação cicatrizante relatada na literatura pode ser justificada pela presença de algumas substâncias, como os taninos (VERAS; MORAIS, 2004).

James *et al.* (2007) realizaram uma pesquisa acerca dos constituintes químicos de *X. americana* utilizando extratos aquosos e metanólicos das folhas, da casca do caule e da raiz. Os resultados indicaram que os constituintes presentes na planta foram carboidratos, na forma de açúcares, e amido solúvel, exceto para o extrato aquoso das folhas. Saponinas, glicosídeos cardiotônicos e antraquinonas estiveram presentes em todos os extratos, exceto nos extratos das folhas, onde não foram encontradas antraquinonas. Observações semelhantes nos extratos das folhas detectaram a presença de flavonóides e taninos em todos os extratos, enquanto que os alcalóides estiveram sempre ausentes.

A atividade antimicrobiana de extratos aquosos e metanólicos de *X. americana* (casca do caule, folhas e raiz) frente a micro-organismos patogênicos

isolados de pacientes no Departamento de Microbiologia da Universidade de Ahmadu Bello, na Nigéria, demonstrou que, a atividade do extrato metanólico da raiz foi mais pronunciada em *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus aureus*, principalmente, quando comparada com extrato metanólico das folhas e do caule. A atividade antimicrobiana observada pode ser atribuída à presença de taninos e flavonóides (BRASILEIRO *et al.*, 2008).

Segundo Matos (2007), ensaios para avaliação da atividade antimicrobiana mostraram que o extrato das folhas é ativo contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida albicans*.

## **4 METODOLOGIA**

Foram selecionadas espécies vegetais conhecidas da medicina popular e com atividade antimicrobiana já pesquisada frente a diversas cepas microbianas de origem humana, sendo nesta pesquisa verificada a sua atividade sobre o fungo *Fusarium solani* causador de fitopatologias em culturas de batata-doce no estado da Paraíba.

### **4.1 Locais de realização da parte experimental**

#### **4.1.1 Preparação dos extratos etanólicos**

Laboratório de farmacotécnica fitoterápica do Curso de Farmácia da Universidade Estadual da Paraíba – UEPB.

#### **4.1.2 Isolamento do Fungo**

O fungo *Fusarium solani* foi isolado e identificado no Laboratório de Fitopatologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB, pela prof<sup>a</sup>. Anne Eveline. Foi feito um repique no meio Agar Sabouraud (DIFCO) e encaminhado em seguida para o Laboratório de Microbiologia da Escola Agrícola Assis Chateaubriand - UEPB, Lagoa Seca, PB.

#### **4.1.3 Ensaios de atividade antifúngica**

Os ensaios de atividade antifúngica foram realizados no Laboratório de Microbiologia da Escola Agrícola Assis Chateaubriand - UEPB, Lagoa Seca - PB, de acordo com os protocolos próprios do Laboratório.

### **4.2 Material vegetal**

As espécies selecionadas para esta pesquisa, suas famílias, nome popular, partes utilizadas e uso estão representadas na tabela abaixo:



**Tabela 1.** Informações gerais sobre as plantas utilizadas nesta pesquisa.

<b>Nome Científico</b>	<b>Família</b>	<b>Nome Popular</b>	<b>Parte Utilizada</b>	<b>Uso Popular</b>	<b>Referências</b>
<i>Anacardium occidentale</i>	Anacardiaceae	Cajueiro, Caju	Casca	Antisséptico, Cicatrizante	Lorenzi e Matos, 2002
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> Benth.	Fabaceae	Angico-vermelho	Casca	Tônico, Adstringente	Oliveira, 2005
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All.	Anacardiaceae	Aroeira-do-Sertão	Casca	Anti-inflamatório	Viana <i>et al.</i> , 1995
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae	Alecrim, Rosmarino	Folhas	Cicatrizante, Antimicrobiano	Lorenzi e Matos, 2002
<i>Stryphnodendron coriaceum</i> Benth.	Fabaceae	Barbatimão	Casca	Cicatrizante, Antisséptico	Santos e Mello, 2000
<i>Ximenia americana</i> L.	Olacaceae	Ameixa do mato	Casca	Cicatrizante, Anti-infecciosa	Veras e Morais, 2004

#### 4.2.1 Aquisição das plantas e identificação

As espécies foram adquiridas do Laboratório Ely Martins especializado em cultivo de plantas medicinais, com certificação pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA e laudo técnico de comprovação de sua identidade botânica e controle de qualidade, por se tratarem de matéria-prima utilizada na preparação de extratos fluidos para uso em humanos.

#### 4.3 Obtenção dos extratos etanólicos

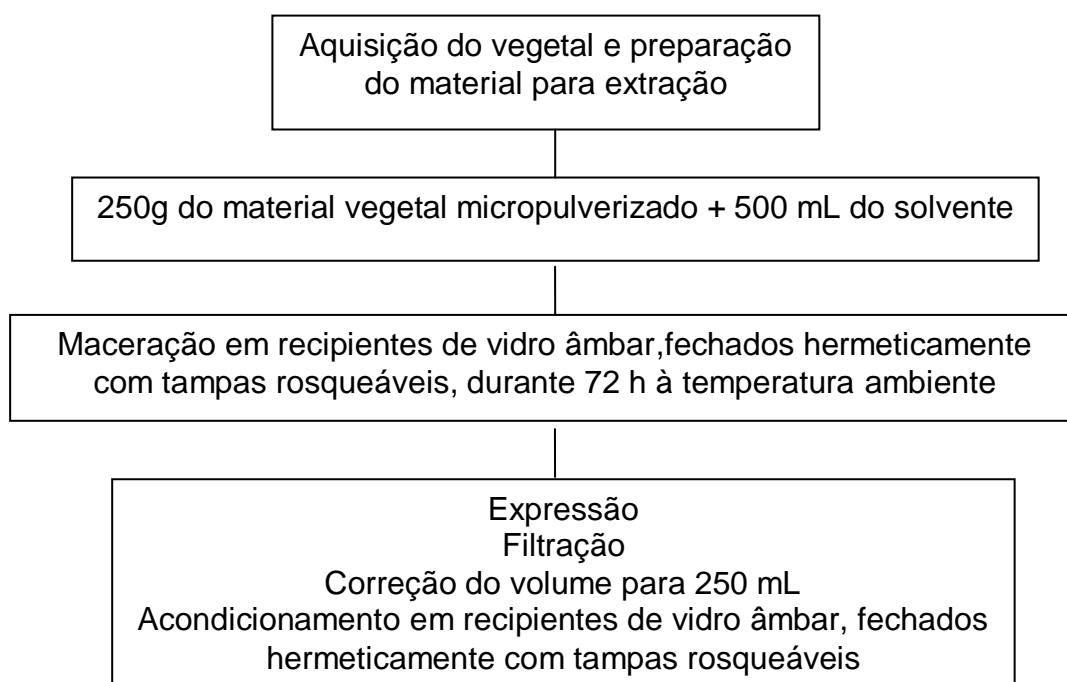
##### 4.3.1 Solvente

A escolha de um solvente depende do que se pretende fazer com o extrato. No caso desta pesquisa, como o interesse foi conhecer a atividade antifúngica, selecionou-se o álcool etílico hidratado - 30% de água, devido a sua baixa toxicidade (não inibindo o bioensaio), por apresentar bom desempenho no processo extrativo e boa viabilidade econômica.

### 4.3.2 Extração

Os extratos etanólicos foram preparados de acordo com as recomendações da Farmacopéia Brasileira 2ª ed. (1959) e Matos (1988).

Os procedimentos técnicos para extração dos compostos vegetais são apresentados na figura abaixo:



**Figura 1.** Fluxograma dos procedimentos técnicos para a preparação dos extratos etanólicos

### 4.4 Isolamento do *Fusarium solani*

Para o isolamento do *Fusarium solani*, amostras de batatas-doce contendo este material biológico foram cortadas em pequenos pedaços e incubadas pelo emprego de “blotter-test” (NEERGAARD, 1979). Neste procedimento, grupos de 10 pedaços de batatas infectadas foram colocados sobre uma camada constituída por três folhas de papel de filtro previamente umedecidas e colocadas no interior de placas de Petri estéreis. Após esta distribuição as placas foram levadas à uma

câmara com temperatura de 24°C, sendo mantidas sob regime de iluminação com luz próxima ao ultravioleta e fotoperíodo de 12 horas. No oitavo dia de incubação, os pedaços de batata foram observados sob microscopia estereoscópica e a partir das colônias desenvolvidas, se fez em câmara de fluxo laminar o plantio dos fungos em placa de Petri e tubos de ensaio contendo o meio de cultura Agar Sabouraud (Difco).

#### 4.5 Identificação

A identificação do fungo foi realizada a partir de parâmetros macro e micro morfológico das colônias crescidas confrontando-as com as descrições da literatura micológica e fitopatológica. (LACAZ; NAGAO; MARTINS, 1991; BELÉM, 1997; SIDRIM e MOREIRA, 1999; FISHER; COOK, 2001; BELÉM, 2002).

As culturas foram mantidas em Agar Sabouraud (DIFCO) a 32°C por um período de 72 horas (Figura 2).



**Figura 2.** Representação fotográfica do *Fusarium solani* cultivado em Agar Sabouraud. Foto: Ricardo, B. C. (2009).

#### 4.6 Meio de cultura

O meio de cultura Agar Sabouraud (DIFCO) foi preparado conforme instruções do fabricante e utilizado para os ensaios de atividade antimicrobiana.

#### **4.7 Preparo da suspensão fúngica**

A suspensão fúngica (inóculo) foi preparada e padronizada em solução de cloreto de sódio a 0,85% estéril, obtendo-se uma suspensão com turvação compatível com a do tubo 0,5 da escala de McFarland, contendo aproximadamente  $10^6$  UFC/mL (CASALS, 1979, FROMTLING; PUI-YU; SHADOMY, 1983; PLEMPEL et al., 1986; CLEELAND; SQUIRES, 1991; ELLIS, 1994; NCCLS, 2002).

#### **4.8 Determinação da atividade antimicrobiana – *screening***

Para a realização dos ensaios de atividade antimicrobiana – *screening* foi utilizado o método de difusão em meio sólido, processo cavidade-placa conforme os protocolos de Bauer et al., (1966); Cleeland; Squires (1991); Hadacek; Greger (2000); NCCLS (2002).

Para realização do teste de difusão, foram utilizadas placas de Petri (90 x 15 mm) descartáveis, estéreis, contendo 20 mL do meio de cultura Agar Sabouraud (DIFCO), que foram inoculadas pela técnica de espalhamento em superfície (BAUER et al., 1966; NCCLS, 2002), com auxílio de swabs estéreis mergulhados na suspensão fúngica, eliminando-se o excesso de líquido por pressão nas paredes do tubo. O inóculo foi semeado em toda a superfície do meio, de modo a se obter um crescimento uniforme. Após o semeio, com o auxílio de perfuradores descartáveis estéreis, foram realizadas seis cavidades de aproximadamente 6 mm de diâmetro, eqüidistantes e previamente identificadas, nas quais adicionou-se 50µL de cada extrato em suas concentrações iniciais (ALVES et al., 2000). As placas foram incubadas a 32°C por 72 horas.

Após o período de incubação, realizou-se a leitura das placas e interpretação dos resultados. Considerando-se ativo, ou seja, com atividade antifúngica, o extrato capaz de inibir o crescimento fúngico, produzindo halo de inibição de crescimento igual ou superior a 10 mm de diâmetro (Drouet; Dupont, 1978; Wong-leung, 1988), ou inativo (ineficaz ou sem atividade) aqueles que não foram capazes de impedir o crescimento fúngico. Os ensaios foram realizados em duplicata e o resultado final foi determinado pela média aritmética, dos valores obtidos nos dois ensaios.

## 5 RESULTADOS

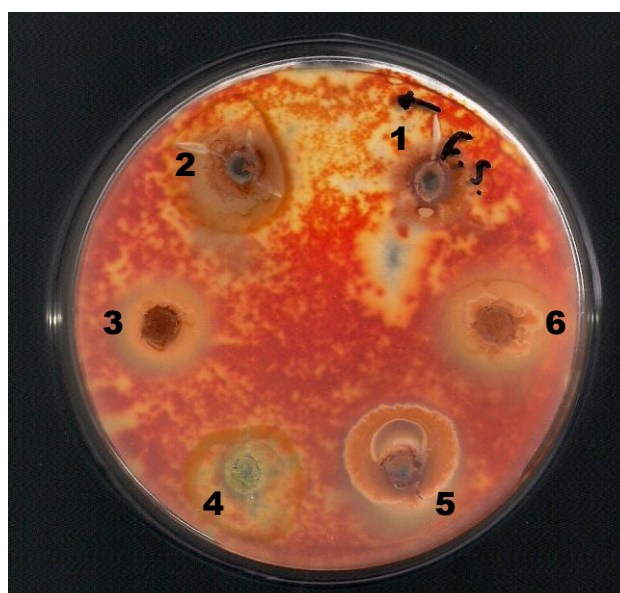
A Tabela 2 apresenta os resultados do *screening* da avaliação de atividade antifúngica *in vitro* dos extratos vegetais frente à linhagem fitopatogênica do *Fusarium solani*.

**Tabela 2.** *Screening* dos extratos vegetais frente ao fungo *Fusarium solani*.

Extratos Vegetais	Halo Médio (mm)	Atividade Antifúngica
<i>Anacardium occidentale</i> L.	0	-
<i>Anadenanthera macrocarpa</i> Benth.	0	-
<i>Myracrodruon urundeuva</i> Fr. All.	0	-
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	0	-
<i>Stryphnodendron coriaceum</i> Benth.	0	-
<i>Ximenia americana</i> L.	0	-

Legenda: (-) Ausência de atividade antifúngica.

A Figura 3 apresenta uma reprodução digitalizada da placa contendo o ensaio realizado com os extratos vegetais diante do *F. solani*, mostrando que nenhum dos extratos testados foi capaz de inibir o crescimento fúngico.



**Figura 3.** Representação digitalizada do *screening* de atividade antifúngica dos extratos vegetais de (1) *Anacardium occidentale* L. (2) *Anadenanthera macrocarpa* Benth. (3) *Myracrodruon urundeuva* Fr. All. (4) *Rosmarinus officinalis* L. (5) *Stryphnodendron coriaceum* Benth. (6) *Ximenia americana* L.

## 6 DISCUSSÃO

Nas últimas décadas, o controle das doenças e pragas na agricultura tem se intensificado, sendo realizado basicamente através do emprego de produtos sintéticos. Na origem do desequilíbrio biológico advindo do crescente uso indiscriminado destes produtos está o fenômeno de resistência das espécies.

A procura por novos agentes antimicrobianos, a partir de plantas, é uma alternativa frente à crescente resistência dos micro-organismos patogênicos aos produtos sintéticos. Além disso, o uso destes pesticidas a longo prazo, causa impactos negativos para a sociedade e para o meio ambiente devido à poluição causada pelos resíduos químicos (AMARAL, 2005).

Neste sentido, a utilização de plantas medicinais no controle de fungos, em especial o *Fusarium solani*, tornou-se uma alternativa ecologicamente correta, pois não causa danos ambientais, nem danos ao trabalhador rural.

No presente trabalho foi avaliada a atividade antifúngica de seis extratos vegetais, as espécies vegetais testadas foram: *Anacardium occidentale* L., *Anadenanthera macrocarpa* Benth., *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., *Rosmarinus officinalis* L., *Stryphnodendron coriaceum* Benth. e *Ximenia americana* L. escolhidas para a pesquisa por apresentaram atividade antimicrobiana.

Neste estudo, o crescimento *in vitro* do *Fusarium solani* não foi inibido, alterado ou diminuído por nenhum dos extratos testado, observando-se ausência de zonas de inibição de crescimento. Portanto, considerou-se que os extratos não apresentaram atividade frente à cepa analisada, uma vez, de acordo com Drouet; Dupont (1978); Wong-Leung (1988) para ser considerado ativo é necessário a presença de halo de inibição de crescimento igual ou superior a 10 mm de diâmetro.

As manchas apresentadas em volta das cavidades são caracterizadas pela difusão dos extratos vegetais no meio de cultura, podendo ser confundidas com zonas de inibição de crescimento (halos).

Segundo BHAT *et al.* (1998) muitos fungos, bactérias e leveduras são resistentes aos taninos encontrados em extratos vegetais com atividade antimicrobiana, podendo crescer e se desenvolver na presença destes.

Apesar das propriedades microbianas dos taninos, muitos microorganismos conseguem se desenvolver em materiais ricos nessa substância. Até em cascas de árvores contendo altas concentrações de taninos como quebracho, barbatimão e

angico pode-se detectar a presença de fungos em desenvolvimento. É comum também se detectar a presença dos fungos *Aspergillus niger* e *Penicillium glaucum* crescendo sobre a película líquida dos tanques contendo extratos vegetais para o curtimento de couros (SCALBERT, 1991).

Dentre os micro-organismos capazes de se desenvolverem em meios ricos em taninos encontram-se as bactérias *Azotobacter vinelandii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Corynebacterium* sp. como também os fungos *Aspergillus niger*, *Calvatia gigantea*, *Penicillium glaucum*, *Penicillium adametzi* e *Trichoderma viride* além de vários fungos de solo (SCALBERT, 1991).

Segundo Carvalho *et al.* (2002) testes *in vitro* com extratos de angico (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan), barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman* L.) e caju roxo (*Anacardeum occidentale* L.) não inibiram ou alteraram o crescimento do fungo *Curvularia eragrostidis*, fitopatógeno que ataca folhas do Inhame (*Dioscorea cayennensis* Lam.).

A ausência de inibição do crescimento do *Fusarium solani* por extratos de plantas ricas em taninos indica que provavelmente o mesmo seja também capaz de desenvolver adaptações bioquímicas ou defesas contra essas substâncias, como bombas de efluxo que expressivamente podem impedir dos ativos atuarem no meio intracelular.

Diante disso, não foi possível determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração fungicida mínima (CFM), como proposto nos objetivos específicos dessa pesquisa.

## 7 CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos conclui-se que:

- Os extratos vegetais de *Anacardium occidentale* L., *Anadenanthera macrocarpa* Benth., *Myracrodruon urundeuva* Fr. All., *Rosmarinus officinalis* L., *Stryphnodendron coriaceum* Benth. e *Ximenia americana* L. utilizados nesta pesquisa não apresentaram atividade antifúngica frente a linhagem fitopatogênica do *Fusarium solani* testada.
- Este resultado não deve ser considerado como um fator negativo em relação à inatividade de alguns produtos vegetais frente a fungos fitopatógenos e muito menos diminuem a sua importância no controle de doenças fúngicas. Eles indicam apenas que algumas plantas ricas em tanino e outros princípios ativos de reconhecido poder antimicrobiano utilizadas neste trabalho de pesquisa são ineficientes no controle da podridão da batata-doce. Contudo, deve abrir espaço para que outras pesquisas sejam realizadas, utilizando estes e outros extratos vegetais, envolvendo não só outras metodologias como também diferentes espécies fúngicas, procurando buscar o conhecimento dos mecanismos de resistência *versus* atividade antimicrobiana, contribuindo assim para o controle biológico na agricultura.



## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRA, M. de F.; FRANÇA P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 17: 114-140, 2007.
- AGRA, M. de F. **Plantas da medicina popular dos cariris velhos (Paraíba – Brasil): espécies mais comuns**. João Pessoa: União, 1996.
- AGRIOS, G.N. Plant diseases caused by fungi. In: AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. San Diego Academic Press, (4): 245-406, 1997.
- ALEXOUPoulos, C. J; MIMS, C. W; BLACKWELL, M. **Introductory mycology**, 4 ed. New York: John Wiley & Sons Inc., 1996.
- ALONSO, J.R. **Tratado de fitomedicina: Bases clínicas y farmacológicas**. Buenos Aires: Isis, 1998.
- ALVES, T. M. de A.; SILVA, A. F.; BRANDÃO, M.; GRANDI, T. S. G.; SMÂNIA, E. de F.; SMÂNIA JÚNIOR, A.; ZANI, C. L. Biological screening of brazilian medicinal plants. **Mem Instit Oswaldo Cruz**, v.95, n.3, p.367-73, 2000.
- AMARAL, M. F. Z. J. *et al.* Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de Fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v.2,n.3,p.5-8, 2005.
- ANDRADE, M. W de.; LUZ, J. M. Q.; LACERDA, A. S.; MELO, P. R. A. de. Micropropagação da Aroeira (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All). **Ciências Agrotec**. Lavras, 24 (1): 174-180, 2000.
- ARIMA, M. *et al.* ***Fusarium solani* Infection Complicated by Tuberculous Ophthalmitis**. 2003. Disponível em: <<http://www.medscape.com/viewarticle/455644>>. Acesso em: 20 set. 2010.
- BAJPAI, B.; PATIL, S. Induction of tannin acyl hidrolase (EC 3.1.1.20) activity in some members of *fungi imperfecti*. **Enzyme Microb. Technol.** v.20, p.612-614, 1997.
- BALARDIN, C.R., CELMER, A.F., COSTA, E.C. & BALARDIN, R.S. Possibilidade de transmissão de *Fusarium solani* f.sp. *glycines*, agente causal da podridão vermelha da raiz da soja, através da semente. **Fitopatologia Brasileira**. 30: 574-581, 2005.
- BANDEIRA, M. A. M. **Contribuição ao conhecimento químico de plantas do nordeste (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.), aroeira-do-sertão** [dissertação]. Universidade Federal do Ceará – UFC, 206f, Fortaleza, 1993.
- BARBOSA, D. C. D. Growth of *Anadenanthera macrocarpa* (Benth) Brenan (leguminosea, minosoideae). **Phyton-international Journal of Experimental Botany**, 52: 51-62, 1991.

BARBIERI, R. L.; CARVALHO, F. I. F. Coevolução de plantas e fungos patogênicos. **Revista Brasileira de Agrociência**, 7: 79-83, 2001.

BATTESTIN, V. *et al.* Fontes e aplicação de taninos e tanase em alimentos. **Alim. Nutr. Araraquara**, 15(1): 63-72, 2004.

BAUER, A. W.; KIRBY, W. M. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. **American Journal of Clinical Pathology**, v.45, p.493-496, 1966.

BEART, J. E.; LILLEY, T. H.; HASLAM, E. Plant polyphenols - secondary metabolism and chemical defense: some observations. **Phytochemistry**. v.24, p.33-8, 1985.

BELÉM, L. de F. **Estudo epidemiológico da *Ptiriase versicolor* no estado da Paraíba e avaliação química e antifúngica de produtos naturais e sintéticos contra seu agente etiológico**. 2002. 178 f. Doutorado (Doutor) - Curso de Programa de Pós-graduação em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos, UFPB, João Pessoa, 2002.

BHAT, K.T.; SINGH, B.; SHARMA, P. O. Microbial degradation of tannins – A current perspective. **Biodegradation**, v.9, p.343-357, 1998.

BOTSARIS, A. **Fórmulas Mágicas: como utilizar e combinar plantas para o tratamento de doenças simples**. Rio de Janeiro: Nova Era, 2006.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste especialmente do Ceará**. Mossoró: Escola Superior de Agricultura, Ed. 3, p. 32-33, 1976.

BRASILEIRO, B. T. R.; COIMBRA M. R. M.; JUNIOR M. A. M.; OLIVEIRA, N. T. de. Genetic Variability Within *Fusarium solani* Specie as Revealed by PCR-Fingerprinting Based on PCR Markers. **Brazilian Journal of Microbiology**. 35: 205-210, 2004.

BRASILEIRO, M. T. *et al.* Ximenia americana L.: botânica, química e farmacologia no interesse da tecnologia farmacêutica. **Revista Brasileira de Farmácia**. 89(2): 164-167, 2008.

BRITO, M. F.; FRANÇA, T. N.; OLIVEIRA, K. D.; CERQUEIRA, V. D. Estudos experimentais em coelhos com plantas cianogênicas. **Pesquisa Vet. Bras.**, 20(2), p. 65-70, abr/jun 2000.

BURDON, J.J.; SILK, J. Sources and patterns of diversity in plant-pathogenic fungi. **Phytopathology**, St. Paul, 87: 664-669, 1997.

BURGESS, L. W. General ecology of the fusaria. In: NELSON, P.E.; TOUSSON, T.A; COOK, R. J, **Fusarium: Disease, biology and taxonomy**. Pennsylvania, State University press, 1981.

CAMARGO, M. T. L. de A. **Plantas medicinais e de rituais afro-brasileiros II: estudo etnofarmacobotânico**. São Paulo: Ícone, 1998.

CÂNDIDO, J. F. & GOMES, J. M. **Angico vermelho**. Boletim de extensão: 3a Ed. Imp. Universitária: Viçosa, 1996.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies Florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Brasília: EMBRAPA CNPF, p.640, 1994.

CARVALHO, R. A.; LACERDA, J. T. de; OLIVEIRA, E. F. de; CHOAIRY, S. A.; BARREIRO NETO, M.; SANTOS, E. S. dos. **Controle da fusariose do abacaxizeiro com plantas antibióticas / control of fusarium fruit rot of pineapple with antibiotic plants**. João Pessoa, PB: EMEPA-PB, 2000.

CARVALHO, R. A *et al.* Extratos de Plantas Medicinais como Estratégia para o Controle de Doenças Fúngicas do Inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste. In: Simpósio Nacional sobre as Culturas do Inhame e do Taro, 2., 2002. João Pessoa, PB. **Anais eletrônicos**. João Pessoa, PB: EMEPA-PB, 2002. v. I, 312 p. :il

CASALS, J. B. **Tablet sensibility testing of pathogenic fungi**. J. Clin. Pathol, v.32, p.719-722, 1979.

CLEELAND, R.; SQUIRES, E. Evaluation of new antimicrobials *in vitro* and in experimental animal infections In: LORIAN, V. **Antibiotics in laboratory medicine**. 3 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 739-788, 1991.

COIMBRA, R. **Manual de fitoterapia**. 2.ed. Belém: CEJUP, 1994.

DANTAS, I. C.; GUIMARÃES, F. R. Plantas Medicinais Comercializadas no Município de Campina Grande, PB. **Revista de Biologia e Farmácia**. 1(1), 2007.

DESMACHELIER, C.; ROMÃO, R. L.; COUSSIO, J.; CÍCIA, G. Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the "caatinga" region in northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, 67(1), p. 69-77, oct 1999.

DOMSCH, K. H.; GAMS, W.; ANDERSON, T. H. **Compendium of soil fungi**. New York: Academic Press, p.859, 1980.

DROUHET, E.; DUPONT, B. Sensitivity of fungi to antifungal compounds, **Bull Soc Fr Mycol Med**, v.7, p. 165-170, 1978.

ELLIS, D. H. **Clinical Mycology. The human opportunistic mycosis**. Australia: Pfizer, 1994.

ETHUR, L. Z.; BLUME E.; MUNIZ, M. F. B.; FLORES, M. G. V. Seleção de Antagonistas Fúngicos a *Fusarium solani* e *Fusarium oxysporum* em Substrato Comercial para Mudas. **Ciência Rural**, Santa Maria, 37(6): 1794-1797, 2007.

ETHUR, L. Z.; BLUME E.; MUNIZ, M. F. B.; ANTONIOLLI, Z. I.; NICOLINI, C.; MILANESI, P.; FORTES, F. O. Presença dos gêneros *Trichoderma* e *Fusarium* em solo rizosférico e não rizosférico cultivado com tomateiro e pepineiro, em horta e estufa. **Ciência Rural**, Santa Maria, 38(1): 19-26, 2008.

Farmacopéia Brasileira, 2ª. ed. (1959) São Paulo: Gráfica Siqueira.

FENNER, R. *et al.* Plantas Utilizadas na Medicina Popular Brasileira com Potencial Atividade Antifúngica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêutica**. 24(3): 369-394, 2006.

FERNANDES. A. **Temas fitogeográficos**. Stylos comunicoes. p. 116, 1990.

FIGHERA, R. A. *et al.* Pneumonia intestinal em bovinos associada à ingestão de batata-doce (*Ipomoea batatas*) mafada. **Revista Pesquisa Veterinária Brasileira**. v. 23, n. 4, p. 161-166, 2003.

FILHO, V. C.; YUNES, R. A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, 21(1): 99-105, 1998.

FISHER, F.; COOK, N.B. **Micologia: Fundamentos e Diagnóstico**. Rio de Janeiro RJ. Revinter, 2001.

FREISE, F. **Plantas Mediciniais Brasileiras**, p.109, 1933.

FROMTLING, R. A.; PUI-YU, H.; SHADOMY, S. *In vitro* inhibitory activities of 2 new orally absorbable imidazole derivatives: BAYN 7133 and BAYN 913. **Sabouraudia**, v.21, p.179-184, 1983.

HADACEK, F. & GREGER, H. Testing of antifungal natural products: methodologies, comparability of results and assay choice. **Phytochem Anal**, v.11, p.137-147, 2000.

HERNANDEZ, A.A.M., ROSAS, R.M., AGUILERA, P. M.M. & LAGUNES, T.A. Use of plant and mineral powders as an alternative for the control of fungi in stored maize grain. **Agrociencia**. 32:75-79. 1998.

JAMES, D. B.; ABU, E. A.; WUROCHEKKE, A. U.; ORJI, G. N. Phytochemical and Antimicrobial Investigation of the Aqueous and Methanolic Extracts of *Ximenia americana*. **J. Med. Sci.** 2: 284-8, 2007.

JORGE NETO, J.; FRACASSO, J. F.; NEVES, M. do C. L. C.; SANTOS, L. E.; BANUTH, V. L. Tratamento de úlcera varicosa e lesões de pele com *Calendula officinalis* L. e/ou com *Stryphnodendron barbatiman* Martius. **Revista Ciências Farmacêuticas**, 17, p. 181-6, 1996.

KUBO, I.; KINST-HORI, I.; YOKOKAWA, Y. Tyrosinase inhibitors from *Anacardium occidentale* fruits. **Journal Nat Prod.** 57: 545-551, 1994.

LACAZ, C. S.; NAGAO, M. T.; MARTINS, J. E. C. **Micologia médica: fungos, actinomicetos e algas do interesse médico**. São Paulo: Sarvier. p. 695, 1991.

LAURENS, A.; MBOUP, S.; GIONO, A.; BARBER, P.; DAVID-PRINCE, M. **Étude de l'action antibatérienne d'extraits d'*Anacardium occidentale* L.** **Ann Pharm Fr.** p.143-146, 1992.

LEKHA, P. K.; LONSANE, B. K. **Production and application of Tannic Acyl Hydrolase: State of the art.** Adv. App. Microbiol. v. 44, 1997.

LORENZI, H. E.; MATOS, F.J. DE A. **Plantas medicinais no Brasil/ Nativas e exóticas.** Nova Odessa: Instituto Plantarum. 2002. 512 p.

LOGUERCIO, A. P.; BATTISTIN, A.; VARGAS, A. C.de; HENZEL, A.; WITT, N. M. Atividade antibacteriana de extrato hidro-alcóolico de folhas de jambolão (*Syzygium cumini* (L.) Skells). **Ciência Rural**, Santa Maria. 35(2): 371-376, Março/Abril, 2005.

LIMA, A. K. de; AMORIM, E. L. C. de. Estudo químico de plantas do nordeste brasileiro visando à obtenção de produtos naturais de potencial atividade biológica. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, VI, 1998, Recife. **Anais eletrônicos.** Recife: UFPE, 1998.

LIONAKIS, M. S.; KONTOYIANNIS, D. P. **Fusarium Infections in Critically Ill Patients: Pathogenesis of Invasive Fusariosis: Patient Populations at Risk.** 2004. Disponível em: <[http://www.medscape.com/viewarticle/477696\\_3](http://www.medscape.com/viewarticle/477696_3)>. Acesso em: 25 out. 2010.

MACEDO, G. A. *et al.* Seleção de fungos produtores de tanase em resíduos vegetais ricos em taninos. **Ciênc. Agrotec., Lavras.** 29(4): 833-838, 2005.

MARTÍNEZ, P. C. G. **Diversidade genotípica de cepas de *Fusarium solani* isoladas de episódios de ceratites.** Tese (Doutorado em Ciências). Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 2004.

MARTINS, M. K. **Variabilidade Genética de Isolados de *Fusarium spp.* e Estudo da Interação com a Planta Hospedeira.** Tese (Doutorado). Escola Superior de Agricultura de Queiroz. Piracicaba, 2005.

MATOS, F. J. de A. **Introdução à fitoquímica experimental.** Fortaleza: ed. UFC, p.128, 1988.

\_\_\_\_\_. **O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha: informações sobre o emprego na medicina caseira, de plantas do Nordeste, especialmente do Ceará.** Fortaleza: EUFC, 2.ed,1997.

\_\_\_\_\_. **Plantas da medicina popular do nordeste.** 2.ed. Fortaleza: EUFC, p.80, 1999.

\_\_\_\_\_. **Plantas medicinais: guia de seleção e emprego das plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil.** Fortaleza: Imprensa Universitária, p. 122-124, 2007.

MELO, A. F. D de *et al.* Atividade antimicrobiana in vitro do extrato de *Anacardium occidentale* L. sobre espécies de *Streptococcus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** 16(2): 202-205, 2006

MELLO, M. de J. R. **Atividade antiinflamatória, cicatrizante e antimicrobiana do extrato aquoso de aroeira-do-sertão a 20% (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.)**

**Aplicado em fraturas expostas induzidas em mandíbulas de coelho**  
[Dissertação]. Universidade Federal do Ceará – UFC, 77f, Fortaleza, 2007.

MENEZES, A. M. S.; RAO, V. S. N.; FONTELES, M. C. Anti-inflammatory Activity of Astroniom urundeuva: possible mechanism involved. **Braz. J Med. Biol. Res.**, 18: 861-864, 1985.

MENEZES, C. D. A. **Determinação da atividade antifúngica *in vitro* de óleos essenciais sobre *Fusarium solani* causador de fitopatologias em cultura de batata-doce no estado da Paraíba.** Dissertação (Graduação). Campina Grande - PB. Universidade Estadual da Paraíba, 2010.

MENEZES, M.; OLIVEIRA, S. M. A. **Fungos fitopatogênicos.** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco. P. 350, 1993.

MORAIS, M. S. **Efeito de dois extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* e da incidência da murcha em feijão-vagem.** Dissertação de Mestrado. Areia PB. Universidade Federal da Paraíba, 2004.

MORAIS, S. M.; DANTAS, J. D. P.; SILVA, A. R. A.; MAGALHÃES, E. F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Revista Brasileira de Farmacognosia.** 15: 169-177, 2005.

MURRAY, P.R; DREW, W.L; KOBAYASHI, G.S; THOMPSON, J.H. **Microbiologia médica.** 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. p. 215, 1992.

NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDART - NCCLS, **Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically.** 2 ed. Tentative standart. NCCLS Document M7-T2, V. B. n. B. Villa Nova PA, National Committee for Clinical Laboratory Standart, 2002.

NEERGAARD, P. **Seed pathology.** 2 ed. London: Mac Millan Press, v.2, p.1191, 1979.

NELSON, P. E.; DIGNANI, M. C.; ANAISSIE, E. J. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. **Clin Microbiol Rev.** 7:479-504, 1994.

NEWALL C. A.; ANDERSON L. A; PHILLIPSON J. D. **Plantas medicinais: guia para profissional de saúde.** São Paulo: Premier, 2002.

OLIVEIRA, L.; COSTA, J. L. S. Análise de restrição de DNA ribossomal amplificado (ARDRA) pode diferenciar *Fusarium solani* f. sp. *Phaseoli* de f. sp. *glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, 27: 631-634, 2002.

OLIVEIRA, M. A. **Modificação Química da Goma do angico (*Anadenanthera macrocarpa* Benth): utilização como adsorvente de metais pesados.** Dissertação (Mestrado em Química) – UFC, Fortaleza, 2005.

OLIVEIRA, A. P. de *et al.* Características produtivas da batata doce em função de doses de P2O5, de espaçamentos e de sistemas de plantio. **Ciências Agrotécnicas.** 30(4): 611-617, 2006.

PANIZZA, S.; ROCHA, A. B.; GECHHI, R.; SILVA, R. A. P. S. *stryphnodendron barbatiman* (Vellozo) Martius: teor em tanino na casca e sua propriedade cicatrizante. **Revista de Ciências Farmacêuticas**, 10, p. 101-6, 1988.

PEREIRA, R. S.; SUMITA, T. C.; FURLAN, M. R.; JORGE, A. O. C.; UENO, M. Atividade antibacteriana de óleos essenciais em cepas isoladas de infecção urinária. **Revista Saúde Pública**, São Paulo. 38(2), 2004.

PESSINI, G.L.; HOLETZ, F.B.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G. DIAS FILHO, B.P.; NAKAMURA, C.V. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizadas na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 13: 21-24, 2003.

PLEMPEL, M.; BERG, D.; BUCHEL, D. B.; ABBINK, D. Test methods for antifungalagents – a critical review. **Mykosen**, v.30, n.1, p.28-34, 1986.

PUHALLA, J. E. Genetic considerations of the genus *Fusarium*. In: Nelson, P. E.; Toussoun, T. A.; Cook, R. J. (Ed) **Fusarium: diseases, biology, and taxonomy**. Pennsylvania: Pennsylvania State University, v.27, p.291-305, 1981.

SANTOS, S. da C.; MELLO, J. C. P. de. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/URFSC, p. 517-544, 2000.

SARTORI, M. R. K. **Atividade antimicrobiana de frações de extratos e compostos puros obtidos das flores de *Acmela brasiliensis Spreng (Wedelipaludosa) (Astereceae)***. p. 65, 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica) – Univali- Itajaí, 2005.

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v.30, n.12, p. 3875-3883, 1991.

SHULTES, R. E.; RAFFAU, F. **The healing forest. Medicinal and toxic plants of the Northwest Amazonia**, Portland: Dioscorides Press, 1990.

SIDRIM, J. J. C.; MOREIRA, J. L. B. **Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 287p, 1999

SILVA, M. S. A.; SILVA, M. A. R.; HIGINO, J. S.; PEREIRA, M. S. V.; CARVALHO, A. A. T. Atividade antimicrobiana e antiaderente *in vitro* do extrato de *Rosmarinus officinalis* Linn. *Sobre bactérias orais planctônicas*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 18(2): 236-240, 2008.

SILVA, H. V. de C. e. Ação da *Stryphnodendron barbatiman* sobre a cicatrização: estudo experimental em ratos. **HB Cient.**, 3(1), p. 77-9, jan-abr 1996.

SILVA, J. B. C da., LOPES C. A., MAGALHÃES, J. S. Culturas de Tuberosas Amiláceas Latino Americanas: Cultura da batata-doce. **Agricultura: tuberosas Amiláceas Latino Americano**. 2: 453-486, 2001.

SIMÕES, C.M.O. E SPITZER, V. Óleos Voláteis. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: Da Planta ao Medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, cap. 18, p. 467-495, 2003.

SOARES K. T; MELO A. S; MATIA E. C. **A cultura da batata-doce (*Ipomoea batatas* (L.) Lam)**. João Pessoa: EMEPA-PB. p.26, 2002.

SOUZA, M.A.A., BORGES, R.S.O.S., STARK, M.L.M. & SOUZA, S.R. Efeito de extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de plantas medicinais sobre a germinação de sementes de alface e sobre o desenvolvimento micelial de fungos fitopatogênicos de interesse agrícola. **Revista Universidade Rural**. 22:181-185. 2002.

SUTTON, J. C. Strategies for biological control of necrotrophic pathogens in perennial crops. **Fitopatologia Brasileira**, 25: 235-238, 2000.

THRANE, U. Grouping *Fusarium* section *Discolor* isolates by statistical analysis of quantitative high performance liquid chromatographic data on secondary metabolite production. **Journal Microbiologic Methods**. 12: 23-39, 1990.

TOKARNIA, C. H.; PEIXOTO, P. V.; GAVA, A.; DÖBEREINER, J. Intoxicação experimental por *Stryphnodendron coriaceum* (Leg. Mimosideae) em bovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, Belo Horizonte, n. 11(1/2), p.25-9, jan-jun 1991.

TOKESHI, H. Doenças e pragas agrícolas geradas e multiplicadas pelos agrotóxicos. **Fitopatologia Brasileira**, 25: 264-271, 2000.

VALVERDE, R. S.; **Avaliação da atividade antifúngica dos extratos brutos etanólicos de: *Cucurbita pepo*, *Remirea marítima*, *Cayaponia tayuya*, *Eucaliptus citriodora*, *Cuminum cyminum*, e Óleo Resina de Copaíba sobre leveduras do gênero *Candida***. Dissertação (Mestrado em Odontologia). Universidade Potiguar. Natal, 2007.

VASCONSELOS, A. G.; BRANQUINHO, F. B.; SANCHEZ, C.; LAGE, C. L. S. Fitofármaco, fitoterápico, plantas medicinais: o reducionismo e a complexidade na produção do conhecimento científico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. São Paulo, 12: 103-5, 2002.

VERAS, A. O. M.; MORAIS, S. M. **Análise dos Constituintes químicos de *Ximenia americana* Linn**. In: IX Semana Universitária e XIII Encontro de Iniciação Científica da Universidade Estadual do Ceará, 2004

VIANA, G. S. B., MATOS, J. A., BANDEIRA, M. A. M., RAO, V. S. N. **Aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Fr. All.) Estudo Botânico, Farmacognóstico, Químico e Farmacológico**. Fortaleza: UFC, p.64, 1995.

WONG-LEUNG, Y. L. Antibacterial activities of some Hong-Kong plants used in Chinese medicine. **Fitoterapia**, v.69, n.1, p.11-16, 1988.



