



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS
GENÉTICOS VEGETAIS**



UILIANE SOARES DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* e *Medusantha martiusii* (LAMIACEAE)
CONTRA MICRO-ORGANISMOS DE INTERESSE AGRÍCOLA**

FEIRA DE SANTANA - BA

2016

UILIANE SOARES DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DE *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* e *Medusantha martiusii* (LAMIACEAE)
CONTRA MICRO-ORGANISMOS DE INTERESSE AGRÍCOLA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, da Universidade Estadual de Feira de Santana, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador: Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira

Co-orientadora: Profa. Dra. Ana Valéria Vieira de Souza

Co-orientadora: Dra. Angélica Maria Lucchese

Feira de Santana - BA

2016

Ficha Catalográfica – Biblioteca Central Julieta Carteado

Santos, Uiliane Soares dos
S239a Avaliação do pontencial antimicrobiano de *Eplingiella fruticosa*,
Gymneia platanifolia e *Medusantha martiusii* (Lamiaceae) contra micro-
organismo de interesse agrícola / Uiliane Soares dos Santos. – Feira de
Santana, 2016.

100 f. : il.

Orientador: Lenaldo Muniz de Oliveira.

Coorientadora: Ana Valéria Vieira de Souza.

Coorientadora: Angélica Maria Lucchese.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Feira de Santana,
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, 2016.

1. *Eplingiella fruticosa*. 2. *Gymneia platanifolia*. 3. *Medusantha
martiusii*. 4. Atividade antimicrobiana. I. Oliveira, Lenaldo Muniz de,
orient. II. Souza, Ana Valéria Vieira de, coorient. III. Lucchese,
Angélica Maria, coorient. IV. Universidade Estadual de Feira de
Santana. V. Título.

CDU: 582.949.2

BANCA EXAMINADORA

Hélio Mitoshi Kamida

Prof. Dr. Hélio Mitoshi Kamida
(Universidade Estadual de Feira de Santana)

Hugo Neves Brandão

Prof. Dr. Hugo Neves Brandão
(Universidade Estadual de Feira de Santana)

Lenaldo Muniz de Oliveira

Prof. Dr. Lenaldo Muniz de Oliveira
(Universidade Estadual de Feira de Santana)
Orientador e Presidente da Banca

*Aos amores da minha vida,
minha família, dedico.*

*“Ainda que a minha mente e o meu corpo enfraqueçam,
Deus é a minha força, Ele é tudo o que eu sempre preciso”*

(Salmos 73:26)

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado a graça da vida, por ser minha fortaleza e não deixar eu desistir facilmente de meus objetivos, por está sempre presente nas horas mais difíceis ou nas de extrema felicidade, por ter colocado no meu caminho pessoas que contribuíram significativamente para o meu crescimento pessoal e por seu imenso amor, obrigada meu Pai.

Aos meus pais Mario Rodrigues dos Santos e Francisca Antônia Soares dos Santos, por serem pais maravilhosos, pelo amor e carinho, pelo incentivo aos estudos, por toda força, compreensão, apoio e união que sempre me proporcionaram.

A minha irmã Fernanda Soares dos Santos, por seu grande otimismo, que acaba contagiando todos ao seu redor, por ser minha amiga, compaheira e querida irmã, pelo seu amor e compreensão comigo e por ser essa pequena grande mulher.

A todos os meus tios, em especial a José Mascena, Pedro Soares e Reginaldo Soares, por todo amor, carinho e confiança, e por toda a ajuda durante todas as fases da minha vida, pelo incentivo e pelos conselhos que só me fizeram crescer e buscar melhorar cada vez mais.

As minhas tias Francisca Rejane, Francisca Regilane, Heloisa Rodrigues, Domingas Rodrigues, Silvia Beckman, Rosana Soares, Maria da Graça, pelo amor, carinho e dedicação, por terem contribuído direta ou indiretamente para o meu crescimento.

A todos os meus primos, em especial a Vanessa Beckman, Maria de Fátima, Tiago Beckman, Hugo Soares e Pedro Gregory, que nesses últimos anos têm me dado muita força, muito carinho, muito amor, assim como por toda ajuda e compreensão.

Aos meus pequenos e lindos priminhos Lucas Beckman, Diego Soares, João Pedro Soares e Virgínia Ghabryelly, por serem tão fofos e por eu amá-los imensamente.

Aos meus avós maternos Antonia Maria da Silva e Raimundo Bráz da Silva (in memoriam) e aos paternos Josefa Rodrigues e Jayme Teodoro Rodrigues, por todo amor, carinho, paciência e ensinamentos.

A minha querida amiga Juliana Azevedo Paixão, por todo o seu apoio e força, por dividir momentos tão alegres comigo, assim como tristes, por sempre me motivar, pelas noites em claro de estudos e por toda a ajuda para a realização deste trabalho.

À Daiane Rodrigues pelo carinho e preocupação, por toda ajuda e pela amizade construída durante esses dois anos de mestrado.

A todos os meus amigos que caminharam comigo durante toda a minha vida, que me amaram e me ensinaram muito e que perto ou longe sempre serão meus grandes amigos, em especial Maria Daniela, Yumara do Carmo, Quécia Cavalcante, Lucivera Rodrigues, Jeanderson André, Otoniel Neto, Rosiel e Jacqueline da Aleluia.

A Enoque Neto, pelo carinho, confiança, compressão e amor, por toda a ajuda, inclusive na parte experimental deste trabalho.

Ao meu orientador Lenaldo Muniz de Oliveira pelas orientações, confiança e ensinamentos, muito obrigada.

A minha co-orientadora Ana Valéria Vieira de Souza pelas oportunidades concedidas desde a graduação, por sempre está me estimulando, ensinando e orientando, pela paciência, confiança e toda humildade.

A minha co-orientadora Angélica Maria Lucchese por toda a contribuição neste trabalho, todo o ensinamento e paciência.

À Meridiana Araújo por toda a ajuda e contribuição neste trabalho, por seus ensinamentos, sua amizade e humildade.

A todos do Laboratório de Produtos Naturais por toda a ajuda e ensinamentos.

A todos do Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido pela ajuda, colaboração e carinho, em especial a Ângela Katiussia, Maziele de Souza, Evellyn Sophia, Rafael Carvalho e Rafela Márcia.

A todos os professores do PPG em Recursos Genéticos Vegetais da UEFS pelos ensinamentos, que contribuíram significativamente para a minha formação.

Aos colegas de pós-graduação, em especial Jacqueline Aleluia, Glêyce Oliveira, Amanda Santana e Andressa Piancó que tive o prazer de conhecê-las e o privilégio de termos caminhado juntas nessa importante jornada.

À Universidade Estadual da Bahia (UNEB) pela infraestrutura disponibilizada, que possibilitou a realização dos testes apresentados no Capítulo I.

A todos os professores, funcionários e bolsistas da Universidade de Feira de Santana (UEFS) que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho.

A Embrapa Semiárido pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

À UEFS por contribuir e ser responsável por minha formação.

À CAPES pela bolsa concedida e apoio ao projeto.

A todas as pessoas que contribuíram de forma direta ou indiretamente durante a minha vida, família, amigos, conhecidos e professores, o meu muito obrigada.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

1	INTRODUÇÃO GERAL	19
1.1	A família Lamiaceae	19
1.2	Fitoquímica e atividade biológica de espécies da família Lamiaceae	19
1.3	Espécies em estudo	22
1.3.1	<i>Eplingiella fruticosa</i>	22
1.3.2	<i>Gymneia platanifolia</i>	23
1.3.3	<i>Medusantha martusii</i>	24
1.4	Doenças de importância para culturas agrícolas no Submédio do Vale do São Francisco	25
1.4.1	Doenças da videira	26
1.4.1.1	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i>	27
1.4.1.2	<i>Aspergillus niger</i>	27
1.4.1.3	<i>Cladosporium herbarum</i>	28
1.4.1.4	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	29
1.4.1.5	<i>Rhizopus</i> spp.	31
1.4.2	Doenças do tomate	32
1.4.2.1	<i>Ralstonia solanacearum</i>	32
1.5	Controle alternativo de doenças de plantas	33
	REFERÊNCIAS	36

2	CAPÍTULO 1 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA IN VITRO DE <i>Eplingiella fruticosa</i>, <i>Medusantha martiusii</i> e <i>Gymneia platanifolia</i> CONTRA BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS DE INTERESSE AGRÍCOLA	44
	INTRODUÇÃO	47
	MATERIAL E MÉTODOS	48
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
	CONCLUSÕES	64
	REFERÊNCIAS	65
3	CAPÍTULO 2 - AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE <i>Eplingiella fruticosa</i>, <i>Gymneia platanifolia</i> e <i>Medusantha martiusii</i> SOBRE O CRESCIMENTO DE FUNGOS CAUSADORES DE PODRIDÕES PÓS-COLHEITA DA VIDEIRA	70
	INTRODUÇÃO	73
	MATERIAL E MÉTODOS	74
	RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
	CONCLUSÃO	87
	REFERÊNCIAS	88
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	92

APÊNDICES

APÊNDICE A: Análise da composição química dos óleos essenciais obtidos de folhas de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (EF), *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (GP) e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (MM). Feira de Santana, Bahia, 2016.....94

APÊNDICE B: Resumo da análise de variância para a variável halo de inibição do crescimento bacteriano de *Ralstonia solanacearum* (Smith) e *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye submetidas a diferentes concentrações do extrato metanólico (EM) e óleo essencial (OE) de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. UEFS, Feira de Santana/BA, 2016.....96

APÊNDICE C: Resumo da análise de variância para a variável halo de inibição do crescimento bacteriano de *Ralstonia solanacearum* (Smith) e *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye submetidas a diferentes concentrações do extrato metanólico (EM) e óleo essencial (OE) de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. UEFS, Feira de Santana/BA, 2016.....97

APÊNDICE D: Resumo da análise de variância do crescimento micelial dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* Van Tieghem e *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link submetidos a diferentes concentrações do extrato metanólico (EM) e óleo essencial (OE) de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. UEFS, Feira de Santana/BA, 2016..98

APÊNDICE E: Resumo da análise de regressão do crescimento micelial dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* Van Tieghem e *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link submetidos a diferentes concentrações do extrato metanólico (EM) e óleo essencial (OE) de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. UEFS, Feira de Santana/BA, 2016..99

LISTA DE SIGLAS, SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

$\mu\text{L mL}^{-1}$: Microlitros por mililitros

$\mu\text{g mL}^{-1}$: microgramas por mililitros

ADE: Água Destilada Esterilizada

BDA: Meio de cultura nutritivo (Batata, Dextrose e Ágar)

CIM: Concentração Inibitória Mínima

CG: Cromatografia gasosa

CG/DIC: Cromatógrafo a gás acoplado a um Detector de Ionização em Chama

CG/EM: Cromatógrafo a gás acoplado a Espectrômetro de Massa

DTCS: Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais

DMSO: Dimetilsufóxido

EM: Extrato Metanólico

EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

mm: Milímetros

NYDA: Meio de Cultura Nutritivo (Ágar Nutritivo, Dextrose e Extrato de Levedura)

OE: Óleos Essenciais.

UNEB: Universidade Estadual da Bahia

UEFS: Universidade Estadual de Feira de Santana

TZC: Tetracloroeto de trifênil tetrazólio

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Compostos majoritários presentes nos óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (EF), *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (GP) e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (MM). Feira de Santana, Bahia, 2016..... 54

Tabela 2. Valores médios para o halo de inibição do crescimento (mm) de *Ralstonia solanacearum* (Smith) e *Xanthomonas campestris* pv *viticola* (Naydu) Dye cultivadas em meio de cultura adicionado de extratos metanólicos e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. Feira de Santana, Bahia, 2016..... 56

Tabela 3. Concentração inibitória mínima de extratos metanólicos e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore contra *Xanthomonas campestris* pv *viticola* (Naydu) Dye e *Ralstonia solanacearum* (Smith). Feira de Santana, Bahia, 2016..... 62

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Compostos majoritários presentes nos óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (EF), *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (GP) e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (MM). Feira de Santana, Bahia, 2016.....78

Tabela 2. Diâmetro do crescimento micelial (cm) dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl, *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* Van Tieghem e *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link. submetidos a extratos metanólicos e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. Feira de Santana/BA, 2016.....81

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

- Figura 1.** *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B. A) Planta inteira. B) Folhas e flores. Feira de Santana, BA..... 22
- Figura 2.** *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. A) Planta inteira; B) Folhas. Feira de Santana, BA..... 24
- Figura 3.** *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. A) Planta inteira; B) Folhas. Feira de Santana, BA..... 25
- Figura 4.** *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye. A) Colônias características da bactéria; B) Sintomas do cancro bacteriano em folhas de videira..... 26
- Figura 5.** *Aspergillus niger* Van Tieghem. A) *Aspergillus niger* com 15 dias de crescimento proveniente da coleção de fungos da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE; B) Cachos afetados por *Aspergillus* spp. (Foto: CANTUS; REYES, 2005)..... 28
- Figura 6.** A) *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link. A) *Cladosporium herbarum* com 20 dias de crescimento proveniente da coleção de fungos da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE; B) Frutos de videira afetados por *Cladosporium herbarum* (Foto: Camili; Benato, 2005)..... 29
- Figura 7.** *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. A) *Lasiodiplodia theobromae* com 2 dias de crescimento proveniente da coleção de fungos da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE; B) Ramos de videira com coloração castanha causado por *Lasiodiplodia theobromae* (Foto: BATISTA, 2010)..... 30
- Figura 8.** *Rhizopus* sp. A) *Rhizopus* sp. com 2 dias de crescimento proveniente da coleção de fungos da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE; B) Cachos de uva afetados por *Rhizopus* spp. (Foto: CAMILI; BENATO, 2005)..... 31
- Figura 9.** *Ralstonia solanacearum* (Smith). A) Colônias características da bactéria em Meio TZC (tetracloroeto de trifenil tetrazólio). B) Sintomas da murcha bacteriana em tomateiro. Universidade Estadual da Bahia, Juazeiro, BA.....33

CAPÍTULO 1

Figura 1. A) Folhas secas em temperatura ambiente, Laboratório de Produtos Naturais (UEFS), Feira de Santana - BA. B) Concentração do extrato em evaporador rotatório (rota evaporador). C) Extrato metanólico bruto. D) Obtenção de óleo essencial - Processo de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger. E) Óleo essencial extraído na coluna graduada do aparelho de Clevenger. F) Cromatógrafo a gás acoplado a um Detector de Ionização em Chama CG/DIC. G) Cromatógrafo acoplado ao Espectrômetro de Massa (CG/EM). H) Inoculação da suspensão bacteriana em meio NYDA. I) Adição de disco de papel filtro (5,5mm) no meio semeado com inóculo bacteriano. J) Discos embebidos com extrato metanólico.....50

Figura 2. Figura 2. Esquema da técnica de microdiluição em caldo utilizada para determina da Concentração Inibitória Mínima de extratos metanólicos e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* e *Medusantha martiusii*.....53

Figura 3. Halo de inibição do crescimento de *Ralstonia solanacearum* (Smith) em meio de cultura suplementado com diferentes concentrações de extratos metanólicos (A) e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. Feira de Santana, Bahia, 2016.....60

Figura 4. Halo de inibição do crescimento de *Xanthomonas campestris* pv *viticola* (Naydu) Dye em meio de cultura suplementado com diferentes concentrações de extratos metanólicos (A) e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. Feira de Santana, Bahia, 2016.....61

CAPÍTULO 2

Figura 1. Metodologia utilizada para avaliação da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos metanólicos. A) Folhas secas em temperatura ambiente, Laboratório de Produtos Naturais (UEFS), Feira de Santana - BA. B) Concentração do extrato em evaporador rotatório (rota evaporador). C) Extrato metanólico bruto. D) Obtenção de óleo essencial - Processo de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger. E) Óleo essencial extraído na coluna graduada

do aparelho de Clevenger. F) Cromatógrafo a gás acoplado a um Detector de Ionização em Chama CG/DIC. G) Cromatógrafo acoplado ao Espectrômetro de Massa (CG/EM). H) extrato em meio BDA homogeneizado com DMSO. I) Transferência de discos contendo estruturas fúngicas ao meio de cultura. J) Fungos inoculados em meio BDA com extrato metanólico...75

Figura 2. Inibição do crescimento micelial dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl, *Rhizopus sp.*, *Aspergillus niger* Van Tieghem e *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link submetidos a diferentes concentrações dos extratos metanólicos e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. Feira de Santana/BA, 2016.....84

RESUMO

As culturas da videira e do tomateiro possuem importante papel econômico no Brasil. Porém problemas fitossanitários podem comprometer a produtividade dessas culturas, entre os quais se destacam doenças causadas por fungos e bactérias que causam prejuízos imensuráveis para os agricultores. Considerando o impacto econômico, ambiental e à saúde da população, decorrentes do uso massivo de defensivos agrícolas, é de extrema importância estudos visando o controle alternativo de doenças, como o uso de produtos naturais com atividade antimicrobiana. Os extratos vegetais e os óleos essenciais surgem como potenciais produtos alternativos que podem ser incorporados ao manejo de fitopatógenos, uma vez que podem ser altamente voláteis e de baixa persistência, o que resulta em menor contaminação do ambiente. Neste contexto as espécies da família Lamiaceae destacam-se por apresentar atividades biológicas importantes, dentre elas elevada atividade antimicrobiana. Diante do exposto o presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antimicrobiana do extrato metanólico e dos óleos essenciais das espécies *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore contra as bactérias *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye e *Ralstonia solanacearum* (Smith), causadoras do cancro bacteriano da videira e da murcha bacteriana do tomateiro, respectivamente, e dos fungos causadores de podridões pós-colheita da videira *Aspergillus niger* Van Tieghem, *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl e *Rhizopus* sp. A coleta das espécies vegetais foi realizada no município de Feira de Santana - BA. O material coletado (folhas), após a secagem em temperatura ambiente, foi destinado ao preparo dos extratos (metanólico bruto) e a extração de óleos essenciais. Os constituintes químicos dos óleos essenciais foram quantificados e identificados através das técnicas de CG/DIC e CG/EM. Para a verificação da atividade antibacteriana dos extratos e óleos essenciais foi empregada a metodologia de difusão em ágar pelo método de discos. Estes foram impregnados com os óleos essenciais e extratos em diferentes concentrações. A variável analisada foi o diâmetro do halo de inibição do crescimento bacteriano. Para a verificação da concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos e dos óleos foi utilizado o método de microdiluição em caldo. Para a avaliação da atividade antifúngica foi empregada a metodologia de difusão em ágar. Os extratos metanólicos e óleos essenciais foram incorporados ao meio de cultura BDA em diferentes concentrações. A variável analisada foi o diâmetro do crescimento micelial. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as suas médias comparadas pelo teste de scott-knott a 5% de probabilidade de erro e para as concentrações análise de regressão. De acordo com os resultados obtidos pode-se inferir que os óleos essenciais de *E. fruticosa*, *M. martiusii* e *G. platanifolia* apresentam como compostos majoritários o óxido de cariofileno, espatulenol e E-cariofileno; epi-longipinanol, α -humuleno e E-cariofileno e espatulenol, óxido de cariofileno e α -muurolol, respectivamente. Os extratos metanólicos e óleos essenciais das espécies *Eplingiella fruticosa*, *Medusantha martiusii* e *Gymneia platanifolia* apresentaram atividade antibacteriana contra as bactérias *X. campestris* pv. *viticola* e *R. solanacearum*, nas diferentes concentrações utilizadas e as CIMs variaram entre 125 $\mu\text{L mL}^{-1}$ a 1000 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Os extratos metanólicos e óleos essenciais estudados apresentaram atividade antifúngica contra os fitopatógenos *A. niger*, *C. herbarum*, *L. theobromae* e *Rhizopus* sp.

Palavras-chave: Controle alternativo de doenças. Fitopatógenos. Lamiaceae. essenciais. Extratos vegetais.

ABSTRACT

The cultures of vine and tomato have an important economic role in Brazil. However phytosanitary issues can compromise the productivity of crops, one issue which stands out are diseases caused by fungi and bacteria that result in immeasurable harm to farmers. Considering the economic, environmental impact and health of the population resulting from the massive use of pesticides it is extremely important that there as studies done to find an alternative control of diseases, such as the use of natural products with antimicrobial activity. Plant extracts and essential oils appear as potential alternatives that can be incorporated into management of phytopathogens, since they can be highly volatile and low persistence, which results in less contamination of the environment. In this context, the Lamiaceae family species is notable for presenting important biological activities, among them high antimicrobial activity. Based on the above, the present study aimed to evaluate the antimicrobial activity of methanol extract and essential oils of species of *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore and *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore against bacteria as *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye e *Ralstonia solanacearum* (Smith), causing bacterial canker of grapevine and tomato bacterial wilt, respectively, and fungi causing rots post-harvest vine *Aspergillus niger* Van Tieghem, *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl e *Rhizopus* sp. The plant species were harvested at Feira de Santana, BA. The collected material (leaves) after drying at ambient temperature, were used for the preparation of the extracts (crude methanol), and the extraction of essential oils. The chemical constituents of essential oils were quantified and identified through the techniques of GC/FID and GC/MS. To check the antibacterial activity of extracts and essential oils the diffusion method in agar by the method of discs was used. These were impregnated with essential oils and extracts at different concentrations. The variable studied was the halo diameter of bacterial growth inhibition. For the verification of the minimum inhibitory concentration (MIC) of the extracts and oils microdilution broth method were used. For the evaluation of the antifungal activity diffusion on agar method was used. The methanol extracts and essential oils were incorporated into the PDA culture at different concentrations. The variable analyzed was the diameter of the mycelial growth. The data were submitted to analysis of variance and their means compared by Scott-Knott test at 5% probability of error and the analysis concentrations of regression. According to the obtained results can infer that the methanolic extracts and essential oils of *Eplingiella fruticosa*, *Medusantha martiusii* and *Gymneia platanifolia* species showed antibacterial activity against bacteria *X. campestris* pv. *viticola* and *R. solanacearum*, in two concentrations and MICs ranging from 125 $\mu\text{L mL}^{-1}$ to 1000 $\mu\text{L mL}^{-1}$, with a strong to moderate antibacterial activity. The methanol extracts and essential oils studied have antifungal activity against phytopathogens such as *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Lasiodiplodia theobromae* and *Rhizopus* sp.

Keywords: Alternative control of diseases. Phytopathogens. Lamiaceae. Essential oils. plant extracts.

1 INTRODUÇÃO GERAL

1.1 A família Lamiaceae

A família Lamiaceae abrange vasto número de espécies, com cerca de 300 gêneros e 7500 espécies com distribuição cosmopolita, mas com particular ocorrência na região Mediterrânea, onde constitui parte integrante da vegetação (SOUZA; LORENZI, 2005; BORDIGNON, 1990).

Esta família destaca-se pela elevada quantidade de espécies aromáticas, dentre elas a alfavaca (*Ocimum basilicum* L.), a lavanda (*Lavandula angustifolia* Mill.), erva cidreira (*Melissa officinalis* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.), alecrim (*Rosmarinus offinalis* L.), tomilho (*Thymus vulgaris* L.) e hortelã-da-folha grossa (*Plectranthus barbatus* Andrews), com uma ampla utilização na medicina popular (LORENZI; MATOS, 2008) e nas indústrias farmacêutica, química e cosmética (SIMÕES; SPITZER, 2000). É relativamente bem estudada do ponto de vista químico, apresentando uma variedade de classes de micromoléculas provenientes da via do acetato, do ácido chiquímico e através de biossíntese mista (MENEZES, 1994).

No Brasil a família Lamiaceae apresenta ampla distribuição de espécies, como, por exemplo, as pertencentes ao gênero *Hyptis*, que ocorrem nos campos cerrados do Brasil Central, mais especificamente nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás (BORDIGNON, 1990), sendo que algumas espécies, como *Hyptis tetracephala* Bordignon e *Hyptis heterodon* Epling são encontradas exclusivamente no Brasil (Bordignon, 1990). Diversas espécies dentro do gênero *Hyptis* apresentam grande endemismo na vegetação do bioma caatinga. Harley (2002) descreve 11 espécies de *Hyptis* como sendo endêmicas na caatinga, sendo três espécies com ampla distribuição (*H. martiusii* Benth, *H. leucocephala* Mart. e *H. platanifolia* Mart.); duas com distribuição restrita a poucas áreas (*H. leptostachys* e *H. calida*) e seis espécies com distribuição exclusiva a um ou poucos locais (*H. longicaulis* Harley, *H. pinheiroy* Harley, *H. sanctigabrielii* Harley, *H. stachydifolia* Epling, *H. viaticum* Harley e *H. simulans* Epling), sendo que as quatro primeiras são exclusivas de locais específicos do estado da Bahia.

1.2 Fitoquímica e atividade biológica de espécies da família Lamiaceae

As espécies da família Lamiaceae são alvos constante de pesquisas, uma vez que são detentoras de óleos essenciais e diversos metabólitos que apresentam importante ação biológica (ARAÚJO et al., 2003; MAKRI; KINTZIOS, 2008).

Estudos realizados com espécies do gênero *Scutellaria* L. mostraram importantes propriedades terapêuticas, tais como: atividades antiespasmódica, antifúngica, febrífuga, antioxidante, anticâncer, anti-HIV, bactericida, antiviral, antiinflamatória e anticonvulsiva (ERSÖZ et al., 2002; LIN et al., 2009; SHANG et al., 2010). Cerca de 300 substâncias biologicamente ativas foram isoladas de 35 espécies desse gênero, sendo os compostos fenólicos (flavonoides, glicosídeos feniletanoides) e os terpenos (glicosídeos iridoides, diterpenos e triterpenoides) os principais grupos constituintes de sua composição química, porém, podem ser encontrados nestas plantas outros metabólitos, tais como, os alcaloides, fitosteróis, polissacarídeos, entre outros (SHANG et al., 2010).

Dentre as plantas da família Lamiaceae, o alecrim é o mais extensivamente estudado e seus extratos são conhecidos por apresentar propriedades antioxidantes naturais. A atividade antioxidante dos extratos de alecrim é atribuída principalmente à presença de compostos fenólicos, volateis e não volateis, como os flavonoides, os ácidos fenólicos e os diterpenos fenólicos, tais como o ácido carnósico e o carnosol (hidrofóbicos) e o ácido rosmarínico e o rosmanol (hidrofílicos) (JUSTO et al., 2008).

O manjeriço (*Ocimum basilicum* L.) é uma das espécies de maior importância econômica pertencente a essa família. Lee e Scagel (2009) caracterizaram a composição química de compostos fenólicos presentes no manjeriço e identificaram a presença de ácido chicórico e ácido caftárico, conhecidos pelos efeitos imunoestimulantes, assim como pelas propriedades antioxidantes. Compostos presentes nos extratos de manjeriço e tomilho, em particular eugenol, timol e carvacrol são amplamente estudados e caracterizam-se por sua elevada atividade antibacteriana (NETO, 2010). Politeo et al. (2007) analisaram a composição química e a capacidade antioxidante de agliconas do manjeriço comparando ao do óleo essencial, verificando quatro compostos comuns, o eugenol, chavicol, linalol e α -terpineol, com elevado potencial antioxidante.

Outro gênero de elevada importância pertencente a essa família é o *Hyptis*, destacando-se por apresentar plantas com o metabolismo especial de elevada variabilidade. Esse gênero sofreu modificações taxonômicas após revisão recente da subtribo Hyptidinae, baseada em marcadores moleculares, quando boa parte de suas espécies foram redistribuídas em onze gêneros: *Cantinoa* Harley & J.F.B. Pastore, *Condea* Adanson, *Cyanocephalus* (Pohl ex Benth.) Harley & J.F.B. Pastore, *Gymneia* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore, *Hyptidendron*

Harley, *Leptohyptis* Harley & J.F.B. Pastore, *Martianthus* Harley & J.F.B. Pastore, *Medusantha* Harley & J.F.B. Pastore, *Oocephalus* (Benth.) Harley & J.F.B. Pastore, *Physominthe* Harley & J.F.B. Pastore e *Eplingiella* Harley & J.F.B. Pastore (HARLEY; PASTORE, 2012).

Estudos realizados com 25 espécies desse gênero revelaram a presença de substâncias com atividade antiinflamatória, anti-HIV, citotóxica, inseticida, antimicrobiana e antifúngica (FALCÃO; MENEZES, 2003). Botrel (2009) verificando a atividade inseticida da espécie *Hyptis marruboides* Epling, observou que o seu óleo essencial apresentou efeito tóxico sobre a formiga cortadeira (*Atta sexdens rubropilosa* FOREL). O potencial antimicrobiano do extrato de *Hyptis spicigera* Lam foi avaliado contra micro-organismos resistentes à ampicilina. Os resultados indicaram que *H. spicigera* apresenta amplo espectro antimicrobiano (LADAN et al., 2009). Esta espécie ainda possui um significativo potencial tripanosomicida contra *Trypanosoma brucei* (LADAN et al., 2011) e uma considerável ação repelente e inseticida contra *Sitophilus zeamais*, uma praga de importante interesse para agricultura (WEKESA et al., 2011).

Estudos realizados com a espécie *Hyptis suaveolens* (L.) Poit revelaram como constituintes majoritários de seu óleo essencial os compostos sabineno, limoneno, biciclogermacreno, β -felandreno e 1,8-cineol (AZEVEDO et al., 2001). Essa espécie possui significada atividade atividade antifúngica e antibacteriana (IWU et al., 1990; ASEKUN et al., 1999).

A atividade antimicrobiana sobre fitopatógenos de interesse agrícola também vem sendo pesquisada para espécies da família Lamiaceae. Tyagi e Malik (2011) avaliaram o efeito antimicrobiano do óleo de hortelã-pimenta sobre os fitopatógenos *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc, *Aspergillus flavus*, *A. niger* e *Fusarium oxysporum* e constaram que o óleo essencial foi eficaz sobre o crescimento desses fitopatógenos. Já Combrinck et al. (2011), observaram que óleo de hortelã-pimenta nas concentrações de 2 $\mu\text{L mL}^{-1}$ e 3 $\mu\text{L mL}^{-1}$, promoveu inibição completa do crescimento micelial de *P. digitatum* e *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc., respectivamente. Estudos mostram que o óleo essencial de *Ocimum gratissimum* L. apresenta atividade antifúngica sobre *R. solani* e *S. rolfsii*, em todas as dosagens testadas (20, 40 e 60 μL) (BENINI et al., 2010). O óleo essencial de *Rosmarinus officinalis* L. apresentou ação inibitória *in vitro* sobre a *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*, agente causal do crestamento bacteriano do feijoeiro, em que foi observada atividade antibacteriana do óleo essencial a partir da concentração de 1% (VIGO et al., 2009). Do mesmo modo Martins et al. (2011) verificou que o extrato aquoso de *Hyptis crenata*

apresenta efeitos fungicidas *in vitro* sobre o crescimento do fungo fitopatógeno *Aspergillus niger* em sementes de pepino. E Al-Rahmah et al. (2013), relataram a eficiência do extrato da espécie *Thymus vulgaris* (Lamiaceae) sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos do tomate (*Fusarium oxysporum*, *Pythium aphanidermatum* e *Rhizoctonia solani*).

1.3 Espécies em estudo

1.3.1 *Eplingiella fruticosa*

Eplingiella fruticosa (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, anteriormente designada *Hyptis fruticosa*, é conhecida popularmente no Nordeste brasileiro como "alecrim-do-campo" (DANTAS; RIBEIRO, 2010). É uma planta aromática de arbusto alto, verde-musgo, com flores azul-lilás (Figura 1) e teve sua origem em vários locais do Nordeste brasileiro (HARLEY, 1988).

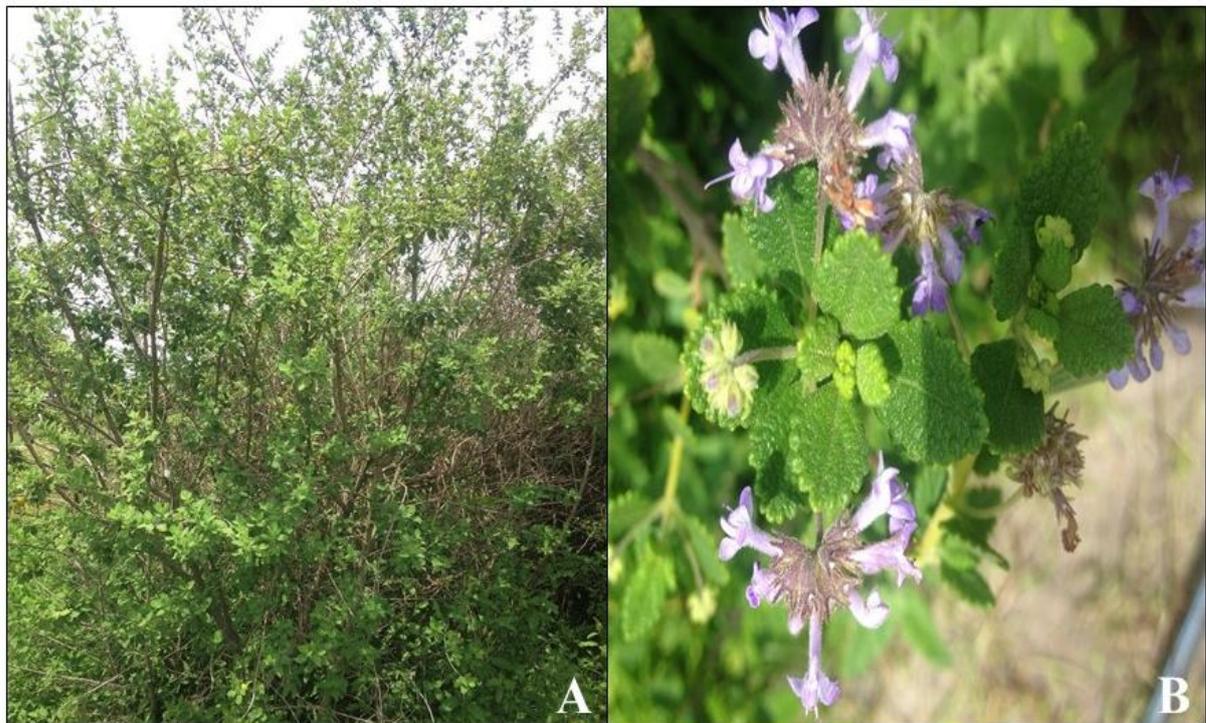


Figura 1. *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B. A) Planta inteira. B) Folhas e flores. Feira de Santana, BA.

A infusão das folhas de *E. fruticosa* é utilizada na medicina popular no tratamento de distúrbios gastrointestinais, infecções de pele, congestão nasal, cólicas, febres, bronquites e

efeito analgésico (SEPTÍMIO, 1994; SILVA, 2006). Estudos realizados com essa espécie revelaram seus principais efeitos terapêuticos, entre eles estão atividades anticonvulsivantes, analgésica e antinociceptiva (MENEZES et al., 2007; SILVA et al., 2006; CÂNDIDO, 2006), atividade anti-inflamatória, antioxidante (ANDRADE et al., 2010) e atividade vasorelaxante (MOREIRA et al, 2010).

Em estudos preliminares sobre a atividade antimicrobiana desta espécie, De Araújo et al. (1974) utilizando extratos metanólicos extraídos das raízes de *E. fruticosa* detectaram atividade antimicrobiana na presença de quinonóides isolados do extrato, com inibição do crescimento dos micro-organismos Gram-positivos e Gram-negativos testados.

Moreno et al. (2005) em análise fitoquímica preliminar do extrato acetato de etila observaram a presença de alcaloides, saponinas, flavonoides, terpenos e esteroides. Franco et al. (2011) observou que o efeito antinociceptivo do óleo essencial de *E. fruticosa* pode estar relacionado com a maior porcentagem dos compostos α -pineno de β -pineno presentes nas flores dessa espécie. Já o óleo essencial de *E. fruticosa* tem sido considerado como uma importante alternativa de inseticida para o controle de larvas de *Aedes aegypti*, uma vez que proporciona uma rica fonte de compostos bioativos que são biodegradáveis e não tóxicos ao meio ambiente (SILVA et al., 2008).

1.3.2 *Gymneia platanifolia*

Gymneia platanifolia (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, anteriormente designada *Hyptis platanifolia* Mart. ex Benth é uma espécie aromática endêmica da região do semiárido brasileiro, perene com caule herbáceo ramoso, folha membranosa peciolada e flores com cálice tubuloso e corola branca (Figura 2). Análises fitoquímicas e fitofarmacológicas têm revelado rendimento médio de 0,5% de óleo nas folhas, com atividade contra *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella choleraesuis* e *Candida albicans*, com α -farneseno e γ -bisaboleno como constituintes majoritários (LUCCHESI et al., 2005; 2006).

O fracionamento cromatográfico do extrato diclorometano de folhas de *G. platanifolia* demonstrou ação antioxidante frente ao DPPH de todas as subfrações obtidas (SILVA et al., 2011).



Figura 2. *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. A) Planta inteira; B) Folhas. Feira de Santana, BA.

1.3.3 *Medusantha martiusii*

Medusantha martiusii (Benth.) Harley & J. F. B. Pastore, anteriormente designada *Hyptis martiusii* Benth. é um pequeno arbusto (Figura 3), conhecido popularmente como “alfazema-de-caboclo”, “louro” e cidreira-do-campo (AGRA et al., 2008). Esta espécie é endêmica, ocorrendo nas regiões sudeste e nordeste do Brasil e pode ser encontrada no cerrado e na caatinga (HARLEY et al., 2015).

Estudos realizados com *M. martiusii* revelaram atividade citotóxica (ARAÚJO et al., 2006) e antimicrobiana (COUTINHO et al., 2008). Como também potencial inseticida contra *Aedes aegypti*, *Bemisia argentifolii* (mosca branca), praga comum de frutas (ARAÚJO et al., 2003) e contra as larvas de *Culex quinquefasciatus*, agente transmissor da filariose (COSTA et al., 2005).



Figura 3. *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. A) Planta inteira; B) Folhas. Feira de Santana, BA.

1.4 Doenças de importância agrícola no Submédio do Vale do São Francisco

1.4.1 Doenças da videira

A videira é uma espécie do gênero *Vitis* que é pertencente à família Vitaceae. Esta família está dividida em várias subfamílias que compreendem um grande número de gêneros e espécies, dentre os quais se destacam as espécies *V. vinifera* L. (de origem europeia) e *V. labrusca* L. (de origem americana), que são as mais cultivadas devido às suas características agronômicas superiores (TEIXEIRA; AZEVEDO, 1996). Existem cerca de 10 mil variedades de videira, adaptadas a diferentes tipos de solo e clima, o que possibilita o cultivo em mais de 40 países no mundo. A uva é amplamente explorada e comercializada, porém é extremamente sensível e o seu cultivo varia de acordo com as condições edafoclimáticas em que se desenvolve, apresentando características diferenciadoras como sabor, brix, acidez, formato, coloração, resistência da casca, tamanho, formato dos cachos e quantidade de sementes (QUEIROZ-VOLTAN; PIRES, 2003; GUERRA, 2009).

A viticultura tem uma significativa contribuição para o crescimento do agronegócio brasileiro de frutas, ocupando uma área de aproximadamente 80.388 hectares, com produção

anual de 1.482.544 toneladas de frutos. A região Sul aparece em primeiro lugar na produção de uva no Brasil (67,5% de produção anual), seguida da região Nordeste (21,3%), contribuindo significativamente com a produção nacional (IBGE, 2015).

Entretanto a videira está sujeita a diversos problemas fitossanitários, entre os quais, doenças causadas por vírus, bactérias e fungos (LIMA; MOREIRA, 2002).

1.4.1.1 *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*

Dentre as doenças que prejudicam a videira, encontra-se o cancro bacteriano, causado pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye. No Brasil, no início do ano de 1998, os sintomas do cancro bacteriano da videira foram detectados, pela primeira vez, em parreirais comerciais do Submédio do Vale São Francisco, doença, até então, desconhecida na região (MALAVOLTA JÚNIOR et al., 2003).

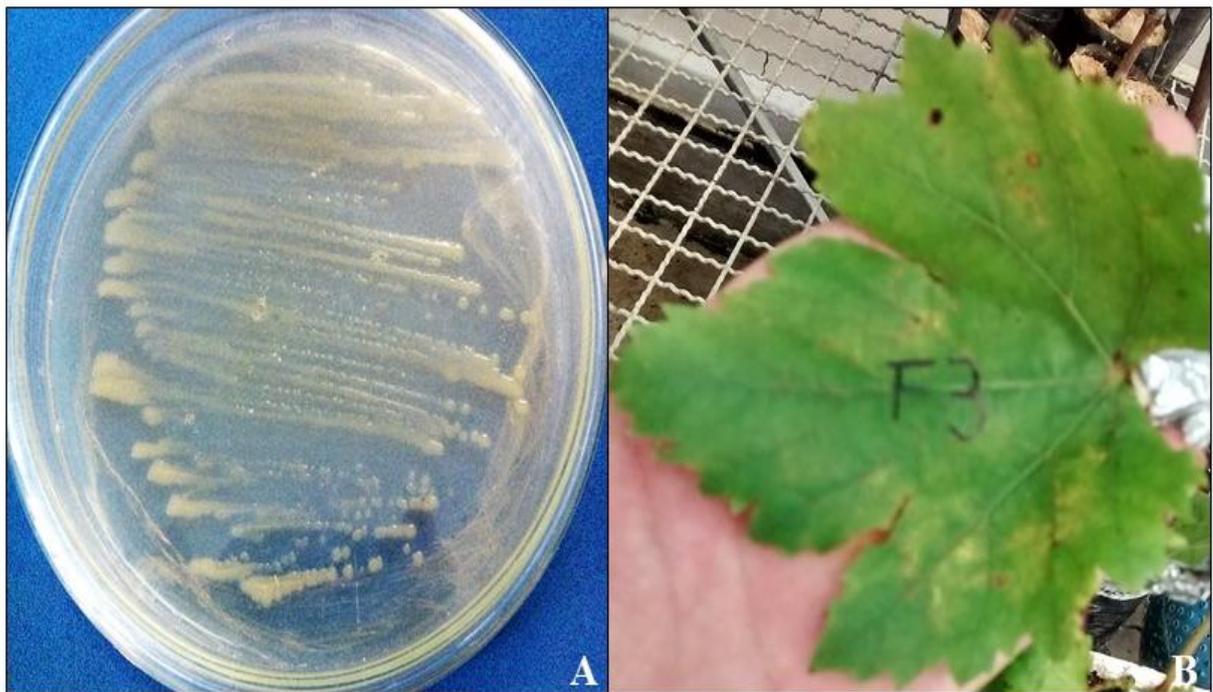


Figura 4. *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye. A) Colônias características da bactéria; B) Sintomas do cancro bacteriano em folhas de videira.

Essa bactéria caracteriza-se por produzir colônias arredondadas, brilhantes com bordos lisos e de coloração esbranquiçada em meio ágar-nutritivo (Figura 4A), devido a não produção de xantomadina, pigmento característico das bactérias do gênero *Xanthomonas*, é gram-negativa, sem pigmentação, possui metabolismo aeróbio e pode sobreviver de um ciclo

para outro em plantas infectadas ou epifiticamente em órgãos da parte aérea, em condições de alta umidade e temperatura (CHAND et al., 1999; ARAUJO, 2001).

O diagnóstico do cancro bacteriano da videira é feito com base nos sintomas observados nas folhas (Figura 4B), cachos e caules. Os sintomas manifestam-se, inicialmente, nas folhas, como pontos necróticos e pode-se evoluir causando crestamento e morte de extensas áreas do limbo foliar. Nas nervuras e pecíolos das folhas, ramos e ráquis dos frutos, formam-se manchas escuras alongadas, que evoluem para fissuras longitudinais de coloração negra, conhecidas como cancos. O diagnóstico do cancro bacteriano da videira é feito com base nos sintomas observados nas folhas, cachos e caules, seguido pelo isolamento bacteriano e identificação por meio de testes bioquímicos, nutricionais e de patogenicidade (LIMA et al., 1999; MALAVOLTA JÚNIOR. et al., 1999).

O controle da doença em condições que são favoráveis ao seu desenvolvimento é considerado difícil. Geralmente o seu controle é feito com a utilização de produtos à base de cobre, porém nem sempre eles são efetivos, devido à existência de estirpes de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* que apresentam tolerância a esses compostos. Isso torna o uso contínuo destes produtos químicos, no Submédio do Vale do São Francisco, pouco promissor no manejo da doença, em médio prazo, devido à seleção e dominância de estirpes tolerantes na população bacteriana (MARQUES et al., 2009).

1.4.1.2 *Aspergillus niger*

O *Aspergillus niger* Van Tieghem (Figura 5A) é um fungo que atinge as colheitas geralmente em períodos chuvosos. A infecção inicia-se ainda no campo e os sintomas podem aparecer antes da colheita ou permanecer quiescente e manifesta-se gradativamente durante o período de armazenamento. No início ocorre um escurecimento e amolecimento do local infectado nas bagas (Figura 5B), seguido de rompimento da casca e conseqüentemente o desenvolvimento de um bolor escuro, que corresponde às estruturas de frutificação do fungo. Com o passar do tempo adquirem uma tonalidade acinzentada, que poderá ser confundida com o mofo cinzento, logo as bagas ficam inviáveis, resultando em grande prejuízo ao produtor (CAMARGO et al., 2012).



Figura 5. *Aspergillus niger* Van Tieghem. A) *Aspergillus niger* com 15 dias de crescimento proveniente da coleção de fungos da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE; B) Cachos afetados por *Aspergillus* spp. (Foto: CANTUS; REYES, 2005).

Esta podridão é comum em localidades de clima com altas temperaturas e elevada umidade relativa. Em condições de temperaturas entre 20-32° C, o fungo pode penetrar diretamente a película de frutos (PEARSON, 1994). A podridão pós-colheita causada por *A. niger* pode ocorrer em todas as fases de desenvolvimento das uvas, com isso, pode ser uma infecção adquirida ou não (BARKAI-GOLAN, 2001).

O gênero *Aspergillus* é um dos principais representantes fúngicos responsáveis por produzir micotoxinas, metabólitos secundários altamente tóxicos, cuja a proliferação ocorre em uma ampla variedade de produtos agrícolas destinados aos consumidores, inclusive a uva (HUSSEIN; BRASEL, 2001).

1.4.1.3 *Cladosporium herbarum*

A podridão causada pelo fungo *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link (Figura 6A), conhecida como podridão-de-Cladosporium ou mal-negro (Figura 6B), é uma doença que ocorre em uvas mantidas sob armazenamento refrigerado por longo período, sendo capaz de crescer mesmo à temperatura de 0° C (BENATO, 2005).

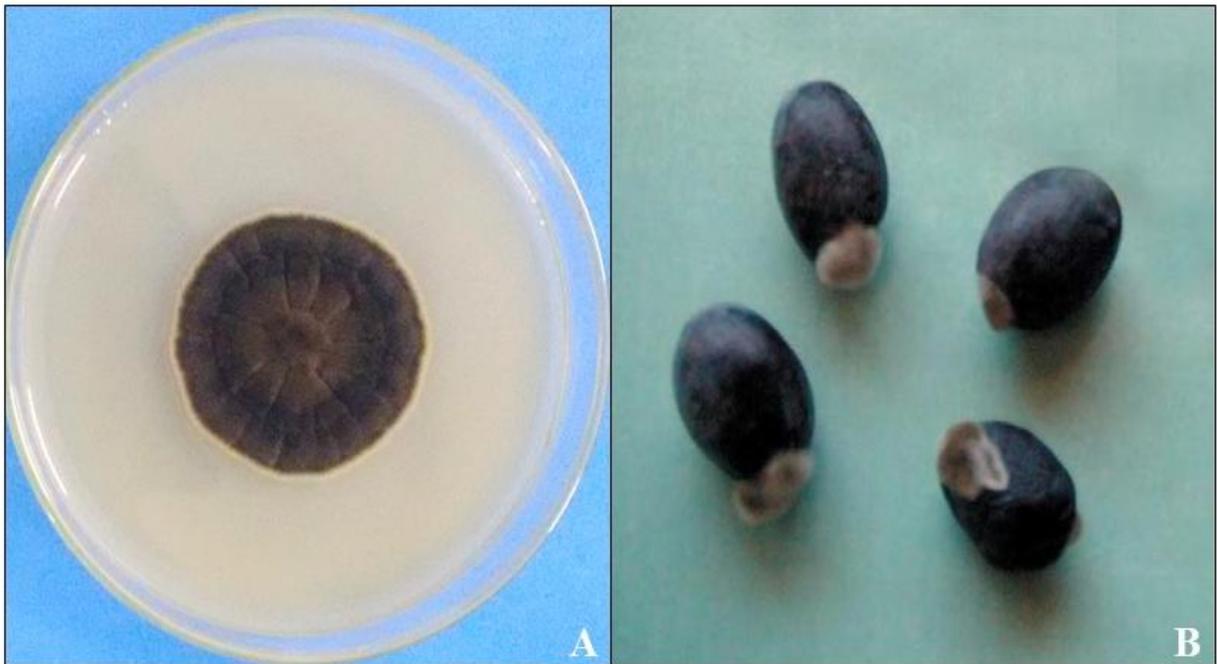


Figura 6. A) *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link. A) *Cladosporium herbarum* com 20 dias de crescimento proveniente da coleção de fungos da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE; B) Frutos de videira afetados por *Cladosporium herbarum* (Foto: CAMILI; BENATO, 2005).

O *C. herbarum* infecta a uva por meio da película, penetrando nas bagas, na fase pré-colheita ou no armazenamento. Posteriormente aparecem lesões circulares, bem definidas. Sob condições de alta umidade relativa, o fungo se desenvolve na superfície das bagas afetadas, resultando em colônias de coloração verde oliva nas quais há produção de elevadas quantidades de esporos. A infecção pode ocorrer em uma ampla faixa de temperatura, com variação de 4-30°C, com ótimo de 20-24°C. Sua infecção também está relacionada com períodos chuvosos (PEARSON, 1994; BENATO, 2003). De acordo com Rezende (1997), este fungo é, frequentemente, um invasor secundário e segundo Silveira et al. (2001), pode comprometer a área externa das frutas infectadas, desta forma, pode comprometer diretamente no seu valor comercial.

1.4.1.4 *Lasiodiplodia theobromae*

O fungo *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl (Figura 7A) é responsável por causar a podridão-de-diplodia, que ao infectar a planta causa morte descendente, podridão seca ou botriodiplodiose (Figura 7B). É comum a penetração deste fungo na planta durante ou

logo após o florescimento e em seguida permanece quiescente até o amadurecimento dos frutos e retornam o seu crescimento quando o teor de açúcar das bagas infectadas atinge 12-15%, causando podridões (PEARSON, 1994).

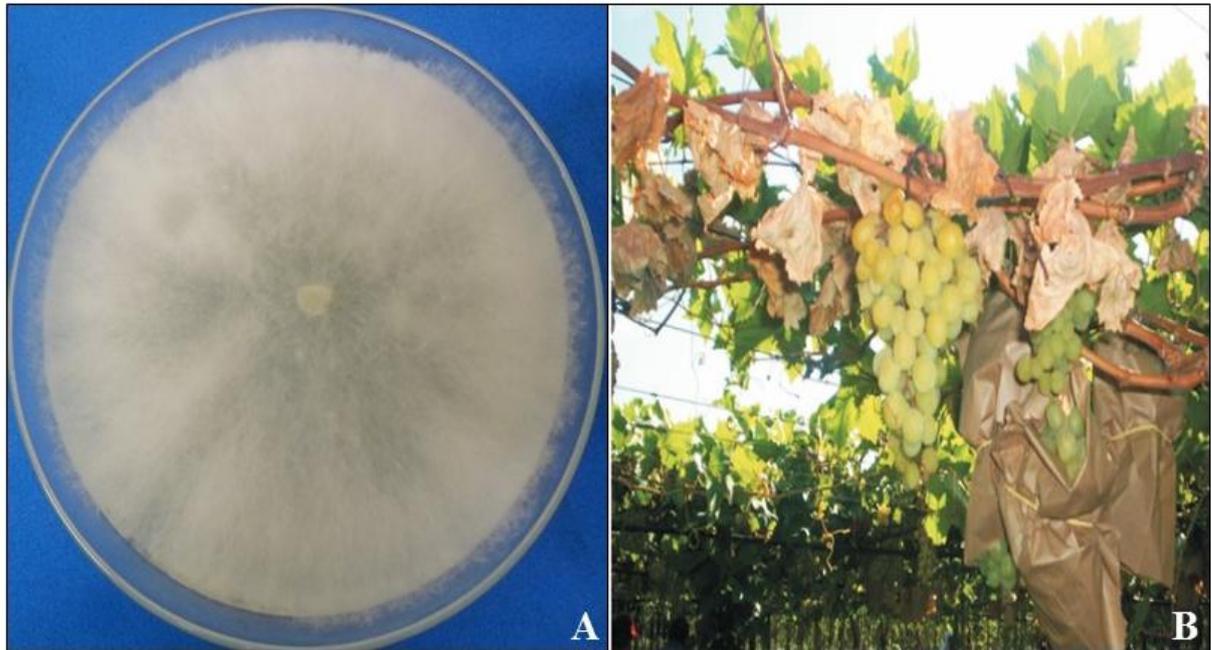


Figura 7. *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. **A)** *Lasiodiplodia theobromae* com 2 dias de crescimento proveniente da coleção de fungos da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE; **B)** Ramos de videira com coloração castanha causado por *Lasiodiplodia theobromae* (Foto: BATISTA, 2010).

A penetração direta do fungo em frutos maduros não é comum, entretanto, pode ocorrer. Os sintomas em videiras surgem, principalmente, nos seus ramos e troncos e resultam no declínio ou até mesmo na morte da planta infectada. Em frutos infectados, as bagas exibem manchas levemente encharcadas e com o desenvolvimento da infecção, a película pode rachar e há a liberação de um suco. As bagas ficam cobertas por micélio do fungo, podendo ficar secas e mumificadas, com a formação de frutificações do patógeno (picnídios) na película. O suco das bagas apodrecidas pode atrair insetos que contaminam os frutos com patógenos secundários (fungos e leveduras) (PEARSON, 1994).

Esta doença ocorre, principalmente, em regiões com altas temperaturas, como as regiões tropicais semiáridas. O fungo se desenvolve na faixa de temperatura de 9-39° C, com crescimento máximo entre 27 e 33° C (PEARSON, 1994). Outras condições que favorecem a infecção e o seu estabelecimento na planta são baixa umidade relativa, plantas sob condições

de estresse hídrico e com nutrição desbalanceada, além da presença de ferimentos sem proteção química. O patógeno sobrevive em partes infectadas das plantas e em restos de cultura, como também, em diversas outras espécies de plantas. A disseminação do fungo se dá pelo transporte de conídios pelo vento, água de irrigação ou chuva (LIMA, 2008).

1.4.1.5 *Rhizopus* sp.

Algumas espécies de *Rhizopus* (Figura 8A), podem causar a podridão-mole na videira, como é o caso do fungo *Rhizopus stolonifer*, que apesar da baixa incidência no Submédio do Vale do São Francisco, pode ocorrer em todas as regiões que mantêm o cultivo da videira, assim como o fungo *Lasiodiplodia theobromae*, destacando-se por ser comum sua ocorrência em bagas maduras (GALLOTI et al. 2002; BENATO, 2003).

Esta podridão ocorre sob condições de clima quente e úmido. Quando os frutos são infectados observa-se sintomas de podridão nas bagas que tornam-se moles e de coloração marrom. Com o desenvolvimento do fungo estruturas emergem através das rachaduras na película das bagas afetadas (Figura 8B). Em condições de alta umidade a disseminação do fungo pode ocorrer para outras bagas, causando a podridão do cacho (PEARSON, 1994).



Figura 8. *Rhizopus* sp. A) *Rhizopus* sp. com 2 dias de crescimento proveniente da coleção de fungos da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE; B) Cachos de uva afetados por *Rhizopus* spp. (Foto: CAMILI; BENATO, 2005).

1.4.2 Doenças do tomate

O tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) é uma espécie de origem andina e pertence à família Solanaceae. Essa espécie possui ampla capacidade adaptativa, herbácea e de ciclo anual, que pode chegar a mais de dois metros de altura. O início da colheita de seus frutos pode ser realizado 45-55 dias após a florescência, ou 90-120 dias depois da sementeira (NAIKA et. al., 2006).

O tomate é uma das olerícolas mais difundidas no mundo, pois ocupa lugar de destaque na mesa do consumidor. As perspectivas para a evolução da cultura são promissoras, tendo em vista o potencial de mercado do tomate orgânico e convencional, tanto da forma *in natura* como industrializada. O tomateiro é uma das principais hortaliças de valor econômico no mundo e é a segunda solanácea mais cultivada, sendo superada apenas pela batata (ABREU, 2006).

Dentre os fatores bióticos envolvidos na diminuição da rentabilidade da cultura do tomateiro as doenças causadas por fitobactérias assumem papel de destaque.

1.4.2.1 *Ralstonia solanacearum*

A bactéria fitopatogênica *Ralstonia solanacearum* (Smith) (Figura 9A) possui elevado interesse agrícola mundial e é causadora da murcha bacteriana em solanáceas (Figura 9B). Esta bactéria é considerada uma espécie heterogênia ou um complexo de espécie, devido à grande variabilidade em relação a gama de hospedeiro, distribuição geográfica, virulência, transmissibilidade por insetos, propriedades fisiológicas e adaptação a diferentes temperaturas. Atualmente a bactéria é classificada em quatro níveis taxonômicos: espécie, filotipo, seque e clone. Esta se caracteriza por ser uma bactéria sistêmica e capaz de causar danos em 54 famílias botânicas, atingindo cerca de 450 espécies, entre as quais banana, amendoim, gengibre, mamão, batata, berinjela, pimentão e tomate (XU et al., 2009).

R. solanacearum pode ser disseminada por meio de material de plantio infectado, ferimentos e contatos entre as raízes das plantas e insetos vetores, através da invasão dos vasos xilemáticos; Espalha-se rapidamente para as partes aéreas da planta hospedeira via sistema vascular. A disfunção vascular proveniente da colonização extensiva, causa murcha e conseqüentemente morte do vegetal (CORDEIRO et al., 2005; TANS-KERSTER et al., 2004).



Figura 9. *Ralstonia solanacearum* (Smith). A) Colônias características da bactéria em Meio TZC (tetracloroeto de trifenil tetrazólio). B) Sintomas da murcha bacteriana em tomateiro. Universidade do Estado da Bahia, Juazeiro, BA

1.5 Controle alternativo de doenças de plantas

O controle de doenças na agricultura tem-se intensificado cada vez mais, sendo realizado basicamente através do emprego de produtos sintéticos (VENTUROSO et al., 2011). Estes produtos em curto prazo auxiliam de maneira eficaz o agricultor no alcance de altas produtividades. No entanto, em longo prazo, estes resultados tornam-se negativos, isso porque podem surgir isolados de fitopatógenos resistentes às substâncias químicas utilizadas, além de prejudicar a sociedade como um todo e ao meio ambiente, devido aos problemas de saúde decorrentes e à poluição causada pelos resíduos (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

Um dos enfoques da agricultura moderna é o controle alternativo de doenças, o qual inclui o controle biológico, a indução de resistência em plantas e o uso de produtos naturais com atividade antimicrobiana (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003).

A busca de substitutos para produtos sintéticos tem-se intensificado e estudos relacionados a produtos bioativos provenientes de plantas medicinais e aromáticas são promissores (SOUZA et al., 2007). A obtenção dos metabólitos secundários de plantas, bem como a determinação da atividade biológica de suas moléculas, com respeito à atividade

elicitora e/ou antimicrobiana poderá contribuir para a aquisição de maiores conhecimentos que reforçam a possível utilização como um método alternativo de controle de doenças de plantas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

As plantas medicinais são detentoras de importantes substâncias bioativas. Com isso o uso de extratos vegetais e óleos essenciais são frequentemente estudados e empregados para o controle de bactérias e fungos fitopatogênicos. Oliveira et al. (2010), trabalhando com óleo essencial, extratos vegetais e sais sobre bactérias fitopatogênicas, obtiveram a inibição do crescimento de *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* Doidge e *X. campestris* pv. *campestris* Pammel quando utilizados extratos de hortelã. O controle do fungo *F. gutiforme* foi possível quando utilizado extratos de alho em diferentes concentrações (20, 30 e 40%) (OLIVEIRA, 2008).

Souza et al. (2007) relataram que os extratos de alho (*Allium sativum* L.) e capim-santo (*Cymbopogon citratus* Stapf) inibiram a germinação do fungo *Fusarium proliferatum*. Bastos (1997) comprovou, *in vitro* e *in vivo*, a ação inibitória do óleo essencial de *Piper aduncum* L. contra *Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Philips-Mora, agente causal da vassoura-de bruxa do cacauero (*Theobroma cacao* L.) e a inibição *in vitro* do crescimento micelial de vários fitopatógenos. O crescimento dessas bactérias, e de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* Jones, também foi inibido com extratos de alho. O óleo essencial e extrato de pimenta-longa (*Piper aduncum* L.) e extrato etanólico de comigo-ninguém-pode (*Dieffenbachia picta* Schott) apresentam capacidade de inibição do crescimento de *Ralstonia solanacearum* (VÉRAS; YUYAMA, 2001; VÉRAS et al., 2002).

As atividades realizadas por extratos vegetais são amplamente estudadas, isso porque estes são normalmente, misturas complexas constituídas quase sempre por diversas classes de produtos naturais como ácidos graxos; terpenoides, esteroides, fenóis, alcaloides, cumarinas e flavonoides. São compostos extremamente importantes nos estudos farmacológicos, químicos e agrônômicos (MARQUES et al., 2004; SIMÕES et al., 2000). O processo de separação desses produtos naturais bioativos presentes nos extratos corresponde a três fases principais: extração a partir da matéria vegetal, fracionamento do extrato e purificação do princípio ativo (MACIEL et al., 2002). Dentre os métodos de extração pode-se destacar a extração a frio (maceração), percolação e extração a quente (infusão e decocção) (BARRETO JÚNIOR; BISCAIA JUNIOR, 2005). Para uma única extração utiliza-se geralmente um solvente polar (metanol e etanol); já para mais de uma extração utiliza-se três ou mais tipos de solventes: apolar (hexano ou éter de petróleo), de polaridade moderada (clorofórmio ou diclorometano) e polar (metanol e etanol) (MACIEL et al., 2002).

As atividades exercidas pelos óleos essenciais de plantas, também são amplamente estudadas, pois estes desempenham importantes funções biológicas no reino vegetal, como a atração de agentes polinizadores e a proteção contra determinados fitopatógenos (CINIGLIO, 1993; MEDICE et al., 2007). São compostos voláteis localizados principalmente em tricomas glandulares, e podem ser encontrados em diferentes órgãos vegetais. São extraídos de plantas, geralmente, através da técnica de arraste a vapor, porém podem ser extraídos também pela prensagem do pericarpo de frutos cítricos, que no Brasil dominam o mercado de exportação (BIZZO, 2009). São constituídos, principalmente de mono e sesquiterpenos e de fenilpropanoides, metabólitos que conferem suas características organolépticas. Devido a sua composição química apresenta elevado valor econômico, com aplicação nas indústrias de perfumarias, cosméticas, de alimentos e como coadjuvantes em medicamentos. São empregados principalmente como aromas, fragrâncias, fixadores de fragrâncias, em composições farmacêuticas e orais, sendo comercializados na sua forma bruta ou beneficiada, fornecendo substâncias purificadas como o limoneno, citral, citronelal, eugenol, mentol e safrol (SILVA-SANTOS et al., 2004; CRAVEIRO; QUEIROZ, 1993).

REFERÊNCIAS

- ABREU, C. L. **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. 2006. Tese de doutorado. UNESP, Botucatu-SP, 2006.
- AGRA, M. F. et al. Survey of medicinal plants used in the Region Northeast of Brazil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p.472-508, 2008.
- AL-RAHMAH, A. N. et al. Fungicidal activities of certain methanolic plant extracts against tomato phytopathogenic fungi. **African Journal of Microbiology Research**, v.7, n.6, p.517–524, 2013.
- ANDRADE, A. M. et al. Preliminary study on the anti-inflammatory and antioxidant activities of the leave extract of *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth., Lamiaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 962-968, 2010.
- ARAÚJO, E. C. C. et al. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. **Journal Agriculture and Food Chemistry**, v. 51, p. 3760-3762, 2003.
- ARAÚJO, E.C. et al. Cytotoxic abietane diterpenes from *Hyptis martiusii* Benth. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 61, p. 177-183, 2006.
- ARAUJO, J.S.P. **Perfil epidemiológico e subsídios para o controle de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye, agente do cancro bacteriano da videira (*Vitis vinifera*) no Brasil**. 2001. Tese de Doutorado - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.
- ASEKUN, O. T.; EKUNDAYO, O.; ADENIYI, B. A. Antimicrobial activity of the essential oil of *Hyptis suaveolens* leaves. **Fitoterapia**, v. 70, n. 4, p. 440-442, 1999.
- AZEVEDO, N. R. et al. Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. **Phytochemistry**, v.57, n. 5, p. 733-736, 2001.
- BARKAI-GOLAN, R. **Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control**. Elsevier Science, 418 p, 2001.
- BARRETO JUNIOR, A. G.; BISCAIA JUNIOR, E. C. Cromatografia de troca-iônica aplicada ao isolamento da fração ácida do óleo de copaíba (*Copaifera multijuga*) e da sacaca (*Croton cajucara*). **Química Nova**, v.28, n.4, p.719-722, 2005.
- BASTOS, C.N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v.22, n.3, p.441-443, 1997.
- BATISTA, D. C. Condições Favoráveis. In: BATISTA, D. C. et al. **Manejo integrado de *Lasioidiplodia theobromae* em videira no Submédio do Vale do São Francisco**. 2010. (Circular Técnica, 91).

- BENATO, E. A. Tecnologia, fisiologia e doenças pós-colheita de uvas de mesa. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco continentes, 2003, 778 p.
- BENINI, P. C. et al. Efeito in vitro do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010.
- BIZZO, H. R. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. **Química Nova**, v.32, n. 3, p.588-594, 2009.
- BORDIGNON, S. A. L. **O Gênero *Hyptis* Jacq. (Labiatae) no Rio Grande do Sul**. 1990. 123p. Dissertação de Mestrado - Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 1990.
- BOTREL, P.P. **Influência de genótipos, ambientes de cultivo e variação sazonal no teor e composição química do óleo essencial de *Hyptis marrubioides* Epling e seu efeito sobre formigas saúva-limão**. 2009. 80p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.
- CAMARGO, R. B. et al. Atmosfera modificada na conservação da qualidade de uva ‘Thompson Seedless’ e na redução da podridão de *Aspergillus*. **Summa Phytopathologica**, v. 38, n. 3, p. 216-222, 2012.
- CAMILI, E. C.; BENATO, E. A. Doenças da uva. In: **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.26, n.228, p.50-55, 2005.
- CÂNDIDO, E. A. F. **Caracterização parcial dos efeitos do extrato hidroalcoólico das folhas da *Hyptis fruticosa* no sistema nervoso central de camundongos**. 2006. 75 p. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde) - Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, 2006.
- CANTUS; J. M.; REYES, J. In: DOMINGOS, C. et al. Guía básica de buenas prácticas vitícolas para minimizar la presencia de ocratoxina A en los productos vitivinícolas. **ACE Revista de Enología**, 2005.
- CHAND, R.; CHAURASIA, S.; SINGH, S.K.; SOKHI, S.S. Grapevine bacterial canker disease: profile of problem and its management. In: VERMA, L.R.; SHARMA, R.C. **Diseases of Horticultural Crops: fruits**. New Delhi: Indus Publishing Co., Cap. 16, p.361-374. 1999.
- CINIGLIO, G. ***Eucalyptus* para a produção de óleos essenciais**. Piracicaba: ESALQ/USP/Departamento de Ciências Florestais, p. 1-15, 1993.
- COMBRINCK, S.; REGNIER, T.; KAMATOU, G. P. P. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit. **Industrial Crops and Products**, v. 33, p. 344-349, 2011.
- CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças da bananeira. In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, cap.15, p. 99 -117. 2005.

- COSTA, J.G.M. et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 304-309, 2005.
- COUTINHO, H. D. M. et al. In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA strains. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 670-675, 2008.
- CRAVEIRO, A. A.; QUEIROZ, D. C. Óleos Essenciais e Química Fina. **Química Nova**, v.16, n.3, p.224-228,1993.
- DANTAS, T. V. P.; RIBEIRO, A. S. Caracterização da vegetação do Parque Nacional Serra de Itabaiana, Sergipe-Brasil. **Biotemas**, v. 23, n. 4, p. 9-18, 2010.
- DE ARAÚJO M. C. M. et al. Substâncias antimicrobianas de plantas superiores. Comunicação XLV. Primeiras observações sobre dois novos quinonóides isolados de *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth. (Labiatae). **Revista do Instituto de Antibióticos**, v. 14, p. 101, 1974.
- ËRSÖZ, T. et al. Phenylethanoid Glycosides from *Scutellaria Galericulata*. **Chemistry**, v.26, p.465- 71, 2002.
- FALCÃO, D. Q.; MENEZES, F.S. Revisão etnofarmacológica. Farmacológica e química do gênero *Hyptis*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.84, n.3, p.69-74, 2003.
- FRANCO, C. R. P. et al. Bioassay-guided evaluation of antinociceptive properties and chemical variability of the essential oil of *Hyptis fruticosa*. **Phytotherapy Research**, v.25, n.11, p.1693–1699, 2011.
- GALLOTI, G. J. M.; GRIGOLETTI JÚNIOR; SONEGO, O. R. 2002. Controle das doenças da videira. In: ZAMBOLIM; L.; VALE, F. X. R.; MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H. **Controle de doenças de plantas: fruteiras**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, v.2, p.939-1021.
- GUERRA, C. C.; MADELLI, F.; TONIETTO, J.; ZANUS, M. C. Z.; CAMARGO, U. A. (Eds.). **Conhecendo o essencial sobre uvas e vinhos**. Bento Gonçalves, RS: Embrapa Uva e Vinho, n. 48, p. 09-15, 2009.
- HARLEY, R. M. Distribuição das espécies de Labiatae na caatinga. In: SAMPAIO, E. V. S. B. et al. (eds.). **Vegetação e flora da caatinga**. Recife: Associação Plantas do Nordeste, p. 49-90. 2002.
- HARLEY, R. M.; PASTORE, J. F. B. A generic revision and new combinations in the Hyptidinae (Lamiaceae), based on molecular and morphological evidence. **Phytotaxa**, v. 58, p. 1-55, 2012.
- HARLEY, R.; FRANÇA, F.; SANTOS, E.P.; SANTOS, J. S.; PASTORE, J. F. 2015. Lamiaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB142>>. Acesso em: 18 Nov. 2015.

HARLEY, R.M. Evolution and distribution of Eriope (Labiatae) and its relation in Brazil. In: **Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns** (Vanzolini PE & Heyer WR eds.). Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, p. 71-121, 1988.

HUSSEIN, S. H.; BRASEL, J. M. Toxicology, metabolismo, and impacto f mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, v. 167, p. 101-134, 2001.

IBGE. **Produção Agrícola do País 2015**: informações sobre culturas permanentes. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 14 maio 2015.

IWU, M. M.; EZEUGWU, C. O; OKUNJI, C. O; SANSON, D. R.; EMPESTA, M. S. Antimicrobial activity and terpenoids of the essential oil of *Hyptis suaveolens*. **International Journal of Crude and Drug Research**, v. 28, n. 1, p. 73-76, 1990.

JUSTO, O.R. et al. Avaliação do potencial antioxidante de extratos ativos de plantas obtidos por extração com fluido supercrítico. **Química Nova**, v.31, n.7, p.1699-705, 2008.

LADAN, Z., AMUPITAN, J. O., OKONKWO, E. M., AIMOLA, H. N. Antimicrobial potency of *Hyptis spicigera* leaf extracts against some pathogenic microorganisms. **Plants Research**, v. 3, n.11, p. 905-908, 2009.

LADAN, Z.; AMUPITAN, J.O.; OYEWALE, O.A.; OKONKWO, E.M.; LADAN, E.O.; ODJOBLO B.; HABILA, N. Chemical composition and biological activity of the volatile oils of *Hyptis spicigera* against *Trypanosoma brucei brucei*, (Tbb) found in Northern Nigeria. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, v. 5, p. 53-58, 2011.

LEE, J.; SCAGEL, C.F. Chicoric acid found in basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves. **Food Chemistry**, v.115, n.2, p.650-6, 2009.

LIMA, M. F. Doenças que comprometem a produção e a comercialização da uva. In: I Simpósio Internacional de Vitivinicultura do Submédio São Francisco. 2008.

LIMA, M. F.; FERREIRA, M. A. S. V.; DIANESE, J. C. Situação do cancro bacteriano da videira causado por *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* no Submédio Vale São Francisco. **Fitopatologia Brasileira**, v.24, p.250, 1999.

LIMA, M. F.; MOREIRA, W. A. Doenças causadas por bactérias. In: LIMA, M. F.; MOREIRA, W. A. (Eds.). **Uva de mesa**: fitossanidade. Petrolina, PE: Embrapa Semiárido; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, Cap.2, p.27-34, 2002.

LIN, L.; HARNLYA, J.M.; UPTON, R. Comparison of the Phenolic Component Profiles of Skullcap (*Scutellaria lateriflora*) and Germander (*Teucrium canadense* and *T. chamaedrys*), a Potentially Hepatotoxic Adulterant. **Phytochemistry**, v.20, p.298-306, 2009.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas**. 2ª ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008. 544p.

LORENZI, H.; SOUZA, V.C. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2. ed. Nova Odessa, SP, 2008. 705 p.

LUCCHESE, A. M. et al. Comparação da atividade antimicrobiana de óleos essenciais extraídos de espécies do semi-árido baiano. In: Reunião anual da sociedade brasileira de química, 29, 2006, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia: Sociedade Brasileira de Química, 2006. p.285.

LUCCHESE, A. M. et al. Óleos essenciais do gênero *Hyptis* da região do semi-árido da Bahia. In: III Simpósio Brasileiro de Óleos Essencias, 2005, Campinas. Livro de Resumos do III Simpósio Brasileiro de Óleos Essenciais. Campinas: Instituto Agrômico de Campinas, p. 118, 2005.

MACIEL, M. A. M; PINTO, A. C.; VEIGA JUNIOR, V. F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n. 3, p.429-438, 2002.

MAKRI, O.; KINTZIOS, S. *Ocimum* sp. (basil): botany, cultivation, pharmaceutical properties, and biotechnology. **Journal of Herbs Spices and Medicinal Plants**, v.13, n.3, p.123-50, 2008.

MALAVOLTA JUNIOR., V. A. et al. Ocorrência de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* em videira no Brasil. **Summa Phytopathologica**, v.25, p.262-264, 1999.

MALAVOLTA JUNIOR., V. A. et al. Resistência de Variedade de Videira a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.70, n.3, p. 373-376, 2003.

MARQUES, E.; UESUGI, C. H.; FERREIRA, M. A. S. V. Sensitivity to cooper in *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*. **Tropical Plant Pathology**, v.34, n.6, 2009.

MARQUES, R. P., MONTEIRO, A. C.; PEREIRA, G. T. Sporulation and viability of entomopathogenic fungi under mediums with different Nim oil (*Azadirachta indica*) concentrations. **Ciência Rural**, v.34, p.1675-1680, 2004.

MARTINS, S. A. G.; OLIVEIRA, R. A.; BAIA, A. D. B.; SILVA, I. L. S. S. Utilização de extrato vegetal aquoso *in vitro* de salva do marajó (*Hyptis crenata*) em sementes de pepino (*Cucumis sativus* L.). **Anais...** 9º Seminário Anual de Iniciação Científica, 2011.

MEDICE, R. et al. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *phakopsora pachyrhizi* syd. & p. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

MENEZES, F. S. **Base química de tendências filogenéticas em Lamiiflorae**. 1994. 94p. Tese de Mestrado, Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1994.

MENEZES, I. A. C. et al. Antinociceptive effect and acute toxicity of the essential oil of *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth. in mice. **Fitoterapia**, v. 78, p. 192-195, 2007.

- MOREIRA, I. J. A. et al. Vasorelaxant effect of *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth., Lamiaceae, dichloromethane extract on rat mesenteric artery. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n.5, 2010.
- MORENO, M. P. N. et al. Efeito analgésico do extrato acetato de etila da *Hyptis fruticosa* (Salzm. ex Benth.). 2005. 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Minas Gerais, **Anais...** Minas Gerais: 28ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2005.
- NAIKA, Shankara et al. **A cultura do tomate: produção, processamento e comercialização.** Fundação Agromisa e CTA, 2006.
- NETO, R.M. et al. The essential oil from *Lippia gracilis* Schauer, Verbenaceae in diabetic rats. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 261, 2010.
- OLIVEIRA, W. J. et al. Ação de óleo e extratos vegetais e sais sobre bactérias fitopatogênicas importantes em Pernambuco. In: JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO – JEPEX, 10., 2010, Recife. UFRPE: Recife, 2010.
- OLIVEIRA, M. D. M. **Controle pré e pós-colheita em abacaxizeiro.** Dissertação de Mestrado em Agronomia. Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB., 2008. 85p.
- PEARSON, R. C.; GOHEEN, A. C. **Compendium of grape diseases.** 1994.
- POLITEO, O.; JUKIC, M.; MILOS, M. Chemical composition and antioxidant capacity of free volatile aglycones from basil (*Ocimum basilicum* L.) compared with its essential oil. **Food Chemistry**, v.101, n.1, p.379-85, 2007.
- REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas.** 3ª ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, p.523-534, 1997.
- QUEIROZ-VOLTAN, R.B; PIRES, E.J.P. A videira. In: POMMER, C.V. (Ed.). **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado.** Porto Alegre: Cinco Continentes, p.37-61. 2003.
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, v. 30, n. 1/2, p. 129-137, 2000.
- SCHWAN, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28 (suplemento), p. 554-556, 2003.
- SEPTÍMIO L. R. **A fitoterapia baseada em ervas medicinais do Cerrado.** Brasília: SIPE, Ministério da Cultura. 1994.
- SHANG, X. et al. The genus *Scutellaria* an ethnopharmacological and phytochemical review. **Journal of Ethnopharmacology**, v.128, p.279-313, 2010.
- SILVA, A. B. L. et al. Evaluation of the analgesic effect and acute toxicity of the aqueous

extract of *Hyptis fruticosa* (Salmz. ex Benth.). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 475-479, 2006.

SILVA, D. A. A; et al. Estudo fitoquímico e avaliação das atividades antimicrobiana e antioxidante de frações do extrato hexânico e diclorometano de *Hyptis platanifolia*. 2011. In: XV Seminário de Iniciação Científica da UEFS, Feira de Santana, 2011.

SILVA, W. J. **Atividade larvicida do óleo essencial de plantas existentes no Estado de Sergipe contra *Aedes aegypti* Linn.** 2006. Dissertação de Mestrado (Núcleo de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente), Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, 2006.

SILVA, W. J. et al. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 3251- 3255, 2008.

SILVA-SANTOS, A. et al. The application of essential oils and terpenics/terpenoids compounds in the fields of pharmaceutic and cosmetic through the knowledge registered in patents. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.14, supl.1, p.48-50. 2004.

SILVEIRA, N. S. S. et al. Hongos fitopatogenos associados a frutos comercializados em Recife, Pernambuco (Brasil). **Boletín Micológico**, v.16, p.41-47, 2001.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M. de O. et al. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 2ª ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/ UFSC, p. 387-416, 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.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática**: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Plantarum, Nova Odessa, 2005.

TANS-KERSTER, J.; BROWN, D.; ALLEN, C. Swimming motility, a virulence trait of *Ralstonia solanacearum*, is regulated by FlhDc and the plant host environment. **Molecular Plant-Microbe Interactions Journal**, v. 17, p. 686-695, 2004.

TEIXEIRA, A. H. C.; AZEVEDO, P. V. Zoneamento agroclimático para a videira européia no Estado de Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Agrometeorologia**, v.4, p.139-145, 1996.

TYAGI, A. K.; MALIK, A. Antimicrobial potential and chemical composition of *Mentha piperita* oil in liquid and vapour phase against food spoiling microorganisms. **Food Control**, v. 22, p. 1707-1714, 2011.

VENTUROSOSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.1, p.18-23, 2011.

VÉRAS, S. M.; KAORU, Y.; ROCHA, S. N.; PINHEIRO, C. C. Extratos e óleos voláteis vegetais com potencial para controle de *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.27, p. 085, 2002.

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

VIGO, S. C. et al. Ação de tinturas e óleos essenciais de plantas medicinais sobre o cretamento bacteriano comum do feijoeiro e na produção de proteínas de indução de resistência. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 4, p. 293-304, 2009.

WEKESA, I.; ONEK, L.A.; DENG, A.L.; HASANALI, A.; OTHIRA J.O. Toxicity and repellent potency of *Hyptis spicigera* extracts on *Sitophilus zeamais motschulsky* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products and Postharvest Research**, v. 2, p. 113-119, 2011.

XU, J. et al. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from China. **European Journal of Plant Pathology**, v. 125, p. 641-653, 2009.

CAPÍTULO 1

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *in vitro* DE
Eplingiella fruticosa, *Gymneia platanifolia* e *Medusantha martiusii* CONTRA
BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS DE INTERESSE AGRÍCOLA**

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA *in vitro* DE *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* e *Medusantha martiusii* CONTRA BACTÉRIAS FITOPATOGÊNICAS DE INTERESSE AGRÍCOLA

Uiliane Soares dos Santos¹; Lenaldo Muniz de Oliveira²; Meridiana Araújo Gonçalves Lima³; Ana Rosa Peixoto⁴; Angélica Maria Lucchese⁵; Ana Valéria Vieira de Souza⁶

¹Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), *uilianesoares@hotmail.com

²Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)

³Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife-PE (UFRPE)

⁴Universidade do Estado da Bahia, Campus III, Juazeiro-BA (UNEB)

⁵Departamento de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)

⁶Embrapa Semiárido, Petrolina-PE

RESUMO: As culturas da videira e do tomateiro possuem importante papel econômico no Brasil, porém problemas relacionados à fitossanidade podem acarretar uma diminuição na produção dessas culturas, causando prejuízos imensuráveis. Dentre esses problemas destacam-se o cancro bacteriano da videira, causado pela bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye e a murcha bacteriana do tomateiro, causada pela *Ralstonia solanacearum* (Smith). O emprego de extratos vegetais e óleos essenciais de plantas medicinais ou aromáticas surgem como potenciais alternativas para o manejo de fitobacterioses, já que o uso indiscriminado de agroquímicos podem ocasionar isolados resistentes, assim como causar impactos para o meio ambiente e a saúde humana. O presente trabalho teve como principal objetivo avaliar a ação antimicrobiana dos extratos metanólicos e óleos essenciais de três espécies da família Lamiaceae, *Eplingiella fruticosa* (Salzm. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, sobre o crescimento das bactérias fitopatogênicas *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye e *Ralstonia solanacearum* (Smith). O material vegetal foi coletado na Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Bahia, e suas folhas foram secas em temperatura ambiente e, em seguida, destinadas ao preparo do extrato (metanólico bruto) e à extração do óleo essencial. Para a avaliação da atividade antimicrobiana foi empregado o método de difusão em ágar utilizando discos (5,5 mm) impregnados com extratos e óleos em diferentes concentrações. Após 48 e 72 horas para *X. campestris* pv. *viticola* e *R. solanacearum*, respectivamente, foi avaliado o diâmetro do halo de inibição (mm). Para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos essenciais e extratos metanólicos foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo. Os resultados obtidos mostraram que os extratos metanólicos e óleos essenciais das espécies *E. fruticosa*, *M. martiusii* e *G. platanifolia* apresentaram atividade antibacteriana contra as bactérias *X. campestris* pv. *viticola* e *R. solanacearum*, nas diferentes concentrações utilizadas. As CIMs variaram entre 125 $\mu\text{L mL}^{-1}$ a 1000 $\mu\text{L mL}^{-1}$, demonstrando que os óleos essenciais e extratos vegetais possuem atividade antibacteriana contra as bactérias fitopatogênicas testadas.

Palavras-chave: Cancro bacteriano. Murcha bacteriana. Óleos essenciais. Extratos vegetais. Família Lamiaceae.

ABSTRACT: The cultures of vine and tomato have an important economic role in Brazil, however, problems related to phytosanitary can lead to a decrease in the production of these crops, causing immeasurable damage. Among these problems include the bacterial canker of grapevine, caused the bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye and bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum* (Smith). The use of plant extracts and essential oils of aromatic and medicinal plants emerge as potential alternatives for handling fitobacterioses as the indiscriminate use of pesticides can cause resistant isolates, as well as causing impacts on the environment and human health. This study aimed to evaluate the antimicrobial activity of methanol extracts and essential oils of three species of Lamiaceae family, *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore and *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, on the growth of phytopathogenic bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye e *Ralstonia solanacearum* (Smith). The plant material was collected at the State University of Feira de Santana (UEFS), Bahia, and the leaves were dried at ambient temperature and then aimed at the preparation of the extract (crude methanol), and the essential oil extraction. For the evaluation of the antimicrobial activity, the agar diffusion method using disks (5.5 mm) impregnated with extracts and oils in different concentrations was applied. After 48 and 72 hours for *X. campestris* pv. *viticola* and *R. solanacearum*, respectively, the inhibition zone diameter (mm) was evaluated. To determine the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of essential oils and methanol extracts in a broth microdilution technique was used. The results showed that methanolic extract and essential oils of species *E. fruticosa*, *M. martiusii* and *G. platanifolia* showed antibacterial activity against bacteria *X. campestris* pv. *viticola* and *R. solanacearum*, the different concentrations used. MICs ranging from 125 $\mu\text{L mL}^{-1}$ to 1000 $\mu\text{L mL}^{-1}$, demonstrating that essential oils and plant extracts have antibacterial activity against plant pathogenic bacteria tested.

Keywords: Bacterial chancre. Bacterial wilt. Essential oils. Plant extracts. Lamiaceae.

INTRODUÇÃO

A região nordeste é a segunda maior produtora de uva no Brasil (21,3%), a qual tem importante influência na economia do país (IBGE, 2015). Nesse contexto, o Submédio do São Francisco se destaca no cenário Nacional, pois é caracterizado como a área de maior concentração de uva no Nordeste, em contínua expansão (LIMA, 2012). Outra cultura de importância econômica para o Brasil é o tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), situando-se entre as olerícolas mais difundidas, pois ocupa lugar de destaque na mesa do consumidor. Melo e Vilela (2004) destaca o Brasil como o principal produtor de tomate da América do Sul, seguido pelo Chile e pela Argentina. O levantamento sistemático da produção agrícola dessa cultura no país chegou a 3.686.816 toneladas no ano de 2015 (IBGE, 2016).

Entretanto, vários fatores têm afetado essas culturas, levando à diminuição da produtividade e conseqüentemente a rentabilidade, entre eles destacam-se problemas fitossanitários causados por bactérias fitopatogênicas (LIMA; MOREIRA, 2002). Dentre as doenças de interesse agrícola destaca-se o cancro bacteriano da videira, causada pelo agente etiológico *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye. Esta bactéria caracteriza-se por ser gram-negativa, sem pigmentação, metabolismo aeróbio e pode sobreviver de um ciclo para outro em plantas infectadas ou epifiticamente em órgãos da parte aérea, em condições de alta umidade e temperatura (ARAUJO, 2001). Seu controle é considerado difícil e o uso de produtos cúpricos nem sempre é efetivo, devido à existência de isolados que apresentam tolerância a esses compostos (SANTOS et al., 2014).

Outra fitobacteriose de elevado interesse agrícola mundial é a murcha bacteriana, causada pela bactéria *Ralstonia solanacearum*, considerada uma espécie heterogênia ou um complexo de espécie. Devido à grande variabilidade em relação a gama de hospedeiro, distribuição geográfica, virulência, transmissibilidade por insetos, propriedades fisiológicas e adaptação a diferentes temperaturas essa tem sido considerada a principal doença do tomateiro. Caracteriza-se por ser uma bactéria sistêmica e capaz de causar danos em 54 famílias botânicas, atingindo cerca de 450 espécies, entre as quais banana, amendoim, gengibre, mamão, batata, berinjela, pimentão, inclusive o tomate (XU et al., 2009).

As fitobacterioses são doenças de difícil controle e, uma vez instaladas no campo, é difícil curar a planta infectada. Até o momento não existem medidas adequadas de controle curativo para o cancro bacteriano e a murcha bacteriana, visto que no Brasil não há antibióticos registrados para o controle químico de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* e *Ralstonia solanacearum* (MARQUES, 2009; COSTA, 2007), fazendo-se necessário a busca

de fontes alternativas para o manejo dessas doenças. Sistemas de cultivo mais sustentáveis e menos dependentes do uso de agroquímicos têm sido desenvolvidos, objetivando a minimização dos impactos ao ambiente e ao homem, por meio da utilização de métodos alternativos no combate a patógenos causadores de doenças em plantas (BRUM, 2012).

As plantas medicinais ou aromáticas surgem como uma alternativa promissora para a substituição de produtos sintéticos, visto que possuem substâncias bioativas com elevada importância, tanto econômica quanto ecológica (SOUZA et al., 2007). Desse modo, produtos secundários envolvidos na defesa da planta podem ser úteis como agentes antimicrobianos de interesse agrícola (VIZZOTO, 2010; SANTOS et al., 2007). Neste contexto destacam-se os óleos essenciais e extratos vegetais, que são amplamente estudados e podem ser importantes fontes para a produção de novos defensivos agrícolas, pois são altamente voláteis e de baixa persistência, o que pode resultar em menor contaminação do ambiente, assim como menores danos aos demais organismos que não sejam o alvo de controle (SILVA; BASTOS, 2007).

A família Lamiaceae possui aproximadamente 300 gêneros e 7.500 espécies distribuídas nos diferentes continentes (ALARCON-AGUIAR et al., 2002; AFONSO, 2010). Em função da composição fitoquímica, as plantas pertencentes a essa família têm sido alvo constante de pesquisas, pois possuem importante valor econômico (VEIGA-JÚNIOR; MELLO, 2008). Cerca de 300 substâncias biologicamente ativas foram isoladas desse gênero, sendo os compostos fenólicos (flavonoides, glicosídeos feniletanoides) e os terpenos (glicosídeos iridoides, diterpenos e triterpenoides) os principais grupos constituintes de sua composição química. Os grupos químicos presentes nas espécies dessa família têm revelado elevada ação tóxica, com propriedades antimicrobianas comprovadas (SILVA et al., 2010; VALERIANO et al., 2012).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação antimicrobiana dos extratos metanólicos e óleos essenciais de três espécies da família Lamiaceae, *Eplingiella fruticosa*, *Medusantha martiusii* e *Gymneia platanifolia*, sobre o crescimento das bactérias fitopatogênicas *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* e *Ralstonia solanacearum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do material vegetal

As folhas de *E. fruticosa* e *M. martiusii* foram provenientes da Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas da Unidade Experimental do Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Bahia, Brasil, localizada a 12°16'00" de latitude sul e 38°58'00" de longitude oeste e as folhas de *G. platanifolia* foram coletadas no campus da Universidade de Feira de Santana, Bahia, Brasil, localizada a 12°12'08" de latitude sul e 38°58'15" de longitude oeste. As coletas ocorreram nos meses de Julho, Agosto e Setembro de 2014.

Obtenção dos extratos metanólicos

Após secagem do material em temperatura ambiente (Figura 1A), por sete dias, o material vegetal foi pulverizado em moinhos de facas e, em seguida, submetido à extração, por três vezes consecutivas, por maceração com metanol durante 72 horas. Os extratos metanólicos (EM) foram concentrados em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, em temperaturas de 40-42°C (Figura 1B). O resíduo do solvente do extrato metanólico foi retirado por evaporação em capela de exaustão.

Obtenção e caracterização química do óleo essencial

Para a extração dos óleos, 100g de folhas secas foram adicionadas em balão de vidro contendo água destilada em volume suficiente para cobertura total do material vegetal. O método de extração foi por hidrodestilação, utilizando-se o aparelho de Clevenger, acoplados em balões de vidro, que foram aquecidos por mantas térmicas elétricas com termostato (Figura 1D). A extração foi conduzida durante 3 horas, contadas a partir da condensação da primeira gota, sendo verificado o volume de óleo extraído na coluna graduada do aparelho de Clevenger (Figura 1E). Após a extração o óleo foi coletado utilizando pipeta do tipo Pasteur e posteriormente foi adicionado ao óleo o sulfato de sódio anidro para eliminação da água residual, em seguida o óleo foi acondicionado em frasco de cor âmbar e mantidos em freezer a uma temperatura de 4°C, até a realização das análises química do óleo e da atividade antimicrobiana.

Para a análise da composição química, 25 mg do óleo essencial foram previamente diluídos em diclorometano. A quantificação foi realizada por Cromatografia de Fase Gasosa acoplada a um Detector de Ionização em Chama (CG/DIC) (Figura 1F). Para a identificação

dos constituintes foi utilizada a Cromatografia de Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM) (Figura 1G).

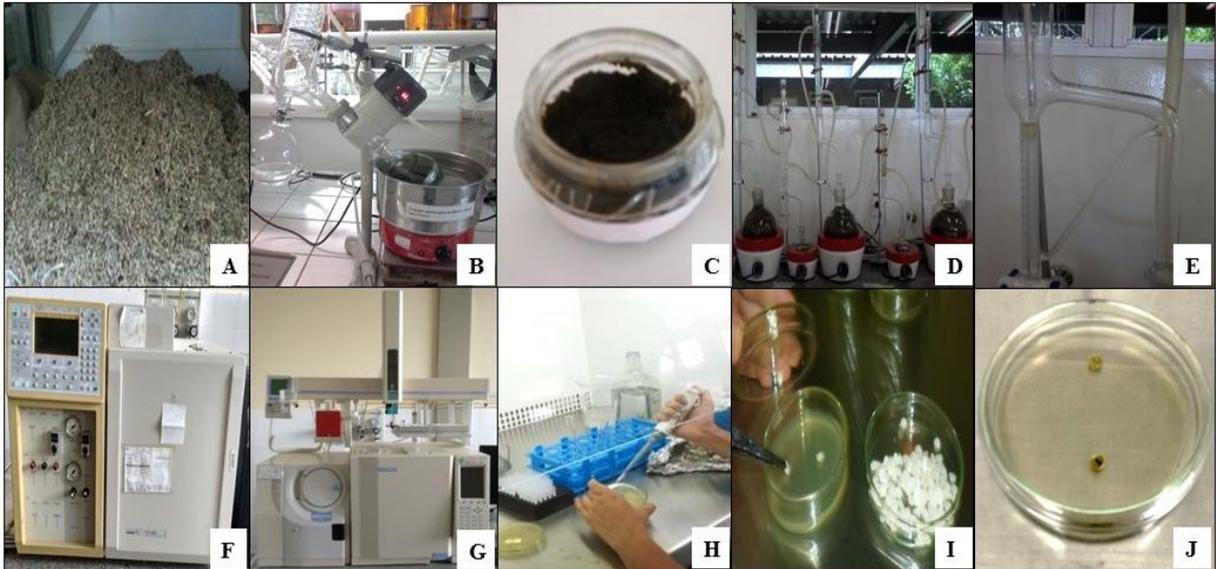


Figura 1. A) Folhas secas em temperatura ambiente, Laboratório de Produtos Naturais (UEFS), Feira de Santana - BA. B) Concentração do extrato em evaporador rotatório (rota evaporador). C) Extrato metanólico bruto. D) Obtenção de óleo essencial - Processo de hidroddestilação em aparelho do tipo Clevenger. E) Óleo essencial extraído na coluna graduada do aparelho de Clevenger. F) Cromatógrafo a gás acoplado a um Detector de Ionização em Chama CG/DIC. G) Cromatógrafo acoplado ao Espectrômetro de Massa (CG/EM). H) Inoculação da suspensão bacteriana em meio NYDA. I) Adição de disco de papel filtro (5,5mm) no meio semeado com inoculo bacteriano. J) Discos embebidos com extrato metanólico.

Na análise por CG/DIC foi utilizado um Cromatógrafo Varian® CP-3380, equipado com DIC e coluna capilar Chrompack CP-SIL 5 (30 m x 0.5 mm), espessura do filme 0.25 μm , temperatura do injetor 220 $^{\circ}\text{C}$ e do detector 240 $^{\circ}\text{C}$, hélio como gás de arraste (1 mL.min⁻¹), com programa de temperatura do forno de: 60 a 240 $^{\circ}\text{C}$ (3 $^{\circ}\text{C}$.min⁻¹), e isoterma de 240 $^{\circ}\text{C}$ por 20 min. As análises por CG/EM foram realizadas em Cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 acoplado a Espectrômetro de Massas CG/MS-QP 2010 Shimadzu®, coluna capilar DB-5ms (30 m x 0.25 mm), espessura do filme 0.25 μm , temperatura do injetor 220 $^{\circ}\text{C}$, gás de arraste hélio (1 mL.min⁻¹), temperatura da interface e da fonte de ionização 240 $^{\circ}\text{C}$, energia de ionização 70 eV, corrente de ionização 0.7 kV e programa de temperatura semelhante à descrita acima. A identificação dos constituintes foi realizada através do cálculo dos índices de Kovats, obtidos pela co-injeção da amostra com uma série homóloga de n-alcanos (C8 a

C24), da comparação dos espectros de massas com a biblioteca do equipamento e da consulta à literatura especializada (ADAMS, 2007). Já a quantificação do percentual relativo dos constituintes identificados foi obtida com base nas áreas dos picos cromatográficos correspondentes, pelo método da normalização.

Avaliação da atividade antimicrobiana

Os ensaios da atividade antibacteriana dos extratos metanólicos e óleos essenciais foram realizados no Laboratório de Fitopatologia da UNEB, Departamento de Tecnologia e Ciências Sociais (DTCS), Campus III, Juazeiro, BA.

O isolado de *Ralstonia solanacearum*, caracterizado molecularmente como Filotipo II, foi obtido de uma área de produção de tomateiro, no projeto de irrigação Maria Tereza em Petrolina-PE. Este foi previamente selecionado de quatro isolados testados através de plantas de tomateiro da variedade Santa Clara com 21 dias de idade. E o isolado de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Xcv3), foi proveniente da coleção de culturas bacterianas do Laboratório de Fitopatologia da UNEB, que se encontrava preservado em água destilada esterilizada (ADE) à temperatura de 25°C.

Para a obtenção dos inóculos bacterianos, a bactéria *R. solanacearum* foi cultivada em meio TZC (tetracloreto de trifetil tetrazólio) modificado por 48 horas à 28°C. As colônias características da bactéria (brancas mucóides com centro róseo) foram transferidas para meio NYDA (ágar nutritivo, dextrose e extrato de carne e de levedura). A bactéria *X. campestris* pv. *viticola* foi cultivada em meio NYDA solidificado e as suspensões bacterianas foram feitas com adição de água destilada e esterilizada (ADE) e a concentração foi ajustada em fotocolorímetro para 5×10^8 UFC mL⁻¹.

Para a avaliação da atividade dos extratos e óleos essenciais foi empregada a metodologia difusão em ágar, pelo método de discos, baseado na técnica descrita por Bauer et al. (1966) com adaptações. Para isso foi dispensado 100 µL do inóculo bacteriano (Figura 1H) e, em seguida, foi semeado em toda a superfície da placa de Petri contendo meio NYDA com auxílio de uma alça de Drigalski. Posteriormente foram adicionados discos de papel filtro (5,5mm) impregnados com 10 µL de extrato ou óleo essencial da planta testada (Figura 1I e 1J). Foram utilizadas as concentrações de 125, 250, 500 e 1000 µg mL⁻¹ para os extratos e 125, 250, 500 e 1000 µL mL⁻¹ para os óleos essenciais, dissolvidos previamente em ADE, utilizando-se como emulsificante o Tween 20. Como controles negativos foram utilizados discos embebidos apenas com o Tween 20 (dose 0) e com a ADE (testemunha absoluta) e

como controle positivo foram utilizados discos com oxiclureto de cobre (antibiótico) na concentração de 50 mg mL^{-1} . As placas foram incubadas a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, por 48 horas para *X. campestris* pv. *viticola* e 72 horas para *R. solanacearum*, em incubadora do tipo BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio). As avaliações foram realizadas medindo-se o diâmetro do halo de inibição (mm) do crescimento bacteriano formado ao redor de cada disco com o auxílio de um paquímetro digital, descontando-se o valor do diâmetro do disco (5,5 mm). Os testes foram realizados em duplicata. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com tratamentos distribuídos em esquema fatorial 3 (espécies vegetais) x 2 (extratos e óleos) x 4 (concentrações) + 3 (testemunhas), com 5 repetições por tratamento e 3 parcelas por repetição, contendo 2 discos por placa. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as suas médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro, e para as concentrações análise de regressão.

Para determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos óleos e extratos foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo (Figura 2). Foram utilizadas placas de ELISA contendo 96 micropoços cada uma. Em cada micropoço foram dispensados $60 \text{ } \mu\text{L}$ de caldo NYD (NYDA sem adição de ágar) e logo em seguida foi inoculada $40 \text{ } \mu\text{L}$ da suspensão bacteriana ajustada para $5 \times 10^8 \text{ UFC mL}^{-1}$, incubando-se a $29 \text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas em incubadora do tipo BOD. Após a formação e sedimentação das colônias nos fundos dos poços das placas, foram dispensados $100 \text{ } \mu\text{L}$ dos óleos e dos extratos, ambos diluídos em DMSO, obtendo uma primeira concentração de $1000 \text{ } \mu\text{L mL}^{-1}$ nas cavidades da coluna 1 (um) e linha A, após foram realizadas diluições em série até a linha H, seguindo com 8 (oito) diluições, retirando-se $100 \text{ } \mu\text{L}$ do micropoço mais concentrado para o sucessor, obtendo assim, concentrações decrescentes. Em seguida foi adicionado $10 \text{ } \mu\text{L}$ de cloreto de tetrazólio (TZC) a 1% como indicador de crescimento bacteriano, sendo as colorações rosa e vermelha indicativas da presença de células viáveis em crescimento e a não coloração indicaram a ausência de crescimento microbiano. Após três horas de reincubação foi realizada a leitura pelo método visual (LIMA, 2016). Como controles foram utilizados ADE e o DMSO (dimetilsufóxido). Os testes foram realizados em triplicata.

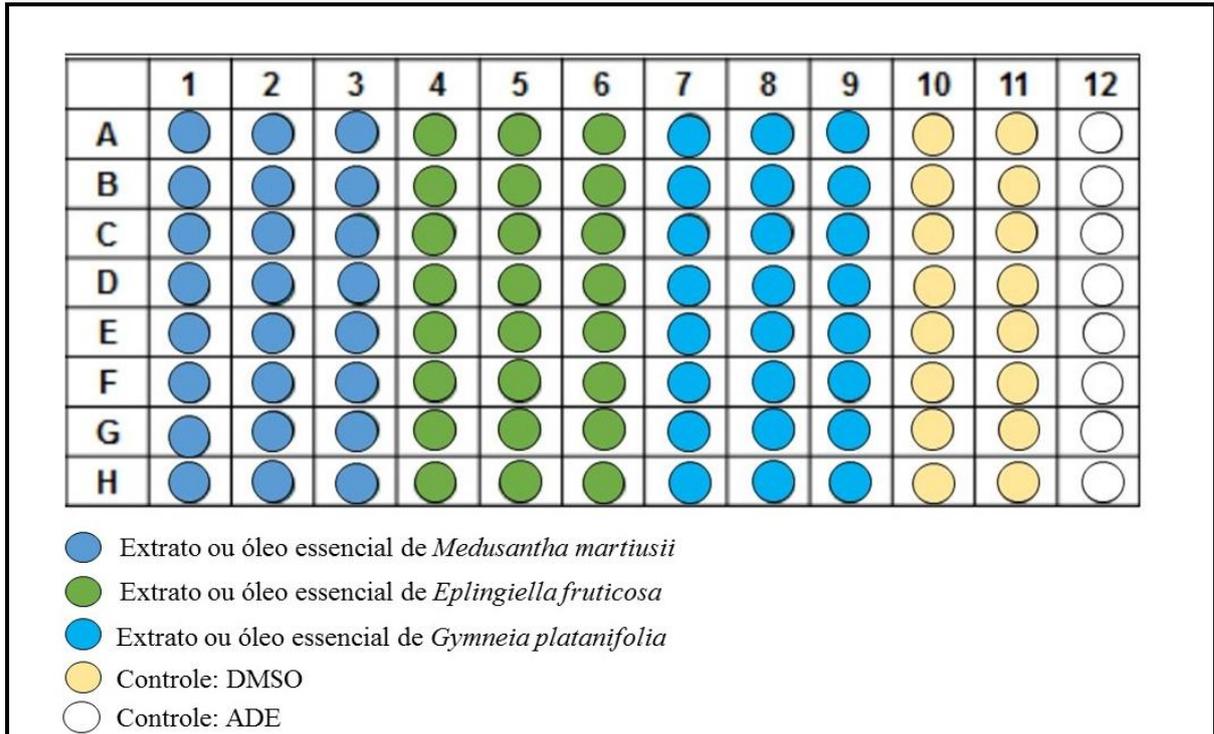


Figura 2. Esquema da técnica de microdiluição em caldo utilizada para determina da Concentração Inibitória Mínima de extratos metanólicos e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* e *Medusantha martiusii*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização química dos óleos essenciais

As análises dos cromatogramas dos óleos essenciais permitiram a identificação química de 43, 39 e 22 constituintes das espécies *E. fruticosa*, *M. martiusii*, e *G. platanifolia*, respectivamente, com ocorrências de monoterpenos e sesquiterpenos, totalizando 82,93; 89,1 e 67,37% dos compostos identificados, respectivamente (Apêndice A). O óleo essencial de *E. fruticosa* apresentou como compostos majoritários o óxido de cariofileno (12,63%), espatulenol (9,23%), E-cariofileno (8,67%), biciclogermacreno (6,40%) e 1,8-cineol (5,30%). Para a espécie *M. martiusii* as substâncias majoritárias foram epi-longipinanol (15,03%), α -humuleno (14,90%), E-cariofileno (9,83%), 1,8-cineol (7,40%), δ -3-careno (5,17%). E para a espécie *G. platanifolia* os compostos majoritários foram espatulenol (27,93%), óxido de cariofileno (10,23%), α -muurolol (5,57%) e α -cadinol (4,73%) (Tabela 1).

Tabela 1. Compostos majoritários presentes nos óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (EF), *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (GP) e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (MM). Feira de Santana, Bahia, 2016.

Compostos	IK _{lit}	IK _{calc}	EF (%)	GP (%)	MM (%)
δ-3-careno	1011	1013	-	-	5,17±0,74
1,8-cineol	1031	1032-35	5,93±0,75	-	7,40±0,66
E-cariofileno	1419	1421-26	8,67±0,70	0,50±0	9,83±0,06
α-humuleno	1454	1456-60	1,53±0,21	0,70±0	14,9±0,36
biciclogermacreno	1496- 1500	1497- 1501	6,40±2,41	-	3,07±0,49
epi-longipinanol	1563	1564	-	-	15,03±1,08
espatulenol	1578-83	1579-84	9,23±1,52	27,93±0,71	0,33±0,06
óxido de cariofileno	1583	1584-87	12,63±1,29	10,23±0,29	2,63±0,40
α-muurolol	1646	1648	-	5,57±0,47	-
α-cadinol	1654	1655	1,33±0,42	4,73±1,12	-

*KI_{lit}= índice de Kovats da literatura; IK_{calc} = índice de Kovats calculado; (t): traços do composto.

Menezes et al. (2007) estudando a espécie *E. fruticosa* identificaram como compostos majoritários o biciclogermacreno (12,32%), 1,8-cineol (16,86%), α-pineno (11,32%) e β-cariofileno (8,82%). Já Silva et al. (2008) identificaram os compostos espatulenol (10,23%), β-cariofileno (9,79%), biciclogermacreno (8,57%) e cânfora (8,12%), como majoritários. Os compostos espatulenol, biciclogermacreno e 1,8-cineol também estão presentes entre os majoritários do óleo essencial de *E. fruticosa* avaliada no presente trabalho.

Em estudos com a espécie *M. martiusii* Costa et al. (2005) observaram que os constituintes químicos majoritários do óleo essencial foram 1,8-cineol (24,3%) e o δ-3-careno (22,5%). Ambos os constituintes também foram encontrados neste trabalho como majoritários, porém em menor porcentagem, 7,4% e 5,17%, respectivamente. Entretanto, Caldas et al. (2011) identificaram como compostos majoritários do óleo dessa espécie o biciclogermacreno (10,60%), trans-cariofileno (9,21%), óxido de cariofileno (7,4%), 1,8-cineol (7,01%), 3-careno (6,88%) e ledeno (5,41%).

É importante ressaltar que um dos compostos majoritários presente no óleo essencial de *M. martiusii*, o α -humuleno, possui efeito anti-inflamatório, inibindo significativamente a expressão da ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e óxido nítrico (FERNANDES et al., 2007). Esse composto é a base do fitofármaco Acheflan®, primeiro fitoterápico produzido completamente no Brasil, a partir do óleo essencial da espécie *Varronia curassavica* (anteriormente designada *Cordia verbenacea* DC.), que apresenta 2,3-2,9% de α -humuleno. Dessa forma, são importantes estudos posteriores que possam avaliar a atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *M. martiusii*, já que este apresentou uma porcentagem de 14,90% de α -humuleno, quantidade superior a utilizada no fitofármaco Acheflan®.

Os sesquiterpenos espatulenol e óxido de cariofileno aparecem em maior porcentagem nos óleos das espécies *E. fruticosa* e *G. platanifolia*. Outros trabalhos reportam a presença desses constituintes voláteis na composição química do óleo essencial de espécies pertencentes a família Lamiaceae, como *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. e *Ocimum basilicum* L. (BENELLI et al. 2012; HUSSAIN et al., 2008).

Avaliação da atividade antimicrobiana

Houve diferença estatística significativa para o halo de inibição do crescimento bacteriano de *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* quando testado os extratos metanólicos e óleos essenciais das três espécies em estudo (Apêndice B). A tabela 2 apresenta os valores médios do halo de inibição do crescimento bacteriano de *R. solanacearum* e *X. campestris* pv. *viticola*, encontrados a partir das diferentes concentrações testadas dos extratos e óleos essenciais de *E. fruticosa*, *G. platanifolia* e *M. martiusii*.

Os ensaios da atividade antimicrobiana revelaram que os extratos metanólicos das três espécies estudadas apresentaram atividade antibacteriana contra a *Ralstonia solanacearum*, porém esta bactéria foi mais sensível ao antibiótico oxiclureto de cobre, em que obteve maiores valores de inibição (11,54 mm), como também, não houve diferença estatística significativa entre os extratos testados.

Tabela 2. Valores médios para o halo de inibição do crescimento (mm) de *Ralstonia solanacearum* (Smith) e *Xanthomonas campestris* pv *viticola* (Naydu) Dye cultivadas em meio de cultura adicionado de extratos metanólicos e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. Feira de Santana, Bahia, 2016.

<i>Ralstonia solanacearum</i>		
	Extrato metanólico	Óleo essencial
<i>E. fruticosa</i>	1,42 bA	0,38 bB
<i>G. platanifolia</i>	1,47 bA	0,62 bB
<i>M. martiusii</i>	2,50 bA	0,79 bB
ADE (CN)	0,00 c	0,00 b
TWEEN (CN)	0,00 c	0,00 b
OXICLORETO (CP)	11,54 a	11,54 a
CV (%)	28,18	30,15
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i>		
	Extrato metanólico	Óleo essencial
<i>E. fruticosa</i>	4,09 aA	1,21 bB
<i>G. platanifolia</i>	4,62 aA	2,40 aB
<i>M. martiusii</i>	2,43 bA	0,15 cB
ADE (CN)	0,00 c	0,00 c
TWEEN (CN)	0,00 c	0,00 c
OXICLORETO (CP)	1,24 c	1,24 b
CV (%)	22,74	32,34

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferenciam entre si pelo teste de Scott-Knott (α 5%). A variável halo foi transformada pela equação Raiz quadrada de $Y + 1.0 - \text{SQRT} (Y + 1.0)$. XCV: *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*; RS: *Ralstonia solanacearum*; ADE: Água destilada esterilizada; Tween: Emulsificante; Oxidoreto: Oxidoreto de cobre (antibiótico). CN: Controle negativo; CP: Controle positivo.

Rattanata (2014), testando extratos das espécies *Ageratum conyzoides* L., *Alysicarpus vaginalis* L., *Commelina bengalensis* L., *Euphorbia hirta* L., *Parthenocissus quinquefolia* L., *Trianthema portulacastrum* L., inclusive a espécie *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) contra as bactérias *Ralstonia* spp., *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Edwardsiella tarda*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Plesiomonas shigelloide*, *Shigella* spp. e *Salmonella* spp., concluíram que a zona de inibição do crescimento de *Salmonella* spp. e *Shigella* spp. cresciam de acordo com o aumento de polaridade crescente do solvente extrator, como também todos os extratos testados foram menos eficazes que o controle positivo (penicilina + estreptomicina) para todas bactérias utilizadas, corroborando com os resultados encontrados para os extratos metanólicos testados no presente estudo contra *Ralstonia solanacearum*, em que o oxiclreto de cobre obteve maiores valores médios de halo de inibição.

Em relação aos óleos essenciais, apesar de ter verificado a formação de halo de inibição do crescimento de *R. solanacearum* na presença dos óleos obtidos das três espécies, não houve diferença estatística significativa em relação ao controle negativo (água destilada), sendo inferior aos resultados obtidos com o controle positivo (oxiclreto de cobre).

Hussain et al. (2008) relataram a sensibilidade da bactéria *Escherichia coli* ao óleo essencial de *Ocimum basilicum* L., verificando um halo de inibição de 11,4 mm. Resultados similares foram encontrados por Bozin et al. (2006), que estudando a composição química dos constituintes voláteis dos óleos essenciais de três espécies da família Lamiaceae, bem como a sua atividade antimicrobiana, verificaram médias superiores para o diâmetro de halo de inibição das espécies *O. basilicum*, *Origanum vulgare* L. e *Thymus vulgaris* L., quando comparadas ao controle testado (penicilina) sobre bactérias multirresistentes a antibióticos comerciais. Estes resultados contrastam com os encontrados neste trabalho em que o OE de *Eplingiella fruticosa*, *Medusantha martiusii* e *Gymneia platanifolia* apresentaram halos de inibição do crescimento bacteriano de *R. solanacearum* inferiores aos obtidos pelo oxiclreto de cobre.

Contrariamente, o extrato metanólico da espécie *G. platanifolia* e *E. fruticosa* promoveram maiores valores de inibição quando testados contra a bactéria *X. campestris* pv. *viticola*, apresentando médias de 4,62 e 4,09 mm, respectivamente, sendo superior estatisticamente em relação ao antibiótico controle (1,24 mm) (Tabela 2). Da mesma forma, a bactéria *X. campestris* pv. *viticola* mostrou-se mais sensível ao óleo essencial de *G. platanifolia* (2,40 mm) em relação aos demais óleos essenciais testados, assim como em relação ao controle positivo (1,24 mm). Produtos à base de cobre têm sido utilizados pelos

produtores de uva no Submédio do Vale do São Francisco no controle do cancro bacteriano, visto que, no Brasil, ainda não há produtos registrados junto ao Ministério da Agricultura e Abastecimento para o controle desta doença, porém, o uso contínuo de produtos cúpricos pode tornar o controle de *X. campestris* pv. *viticola* mais difícil, pois várias estirpes da bactéria já possuem tolerância adquirida aos produtos com formulações a base de cobre (Marques et al., 2009). Neste trabalho foi possível notar que a *X. campestris* pv. *viticola* foi pouco sensível ao oxiclreto de cobre na dosagem utilizada (50 mg mL⁻¹). Resultado similar foi encontrado por Quezado-Duval et al. (2003), que ao testar o cobre, oxitetraciclina e estreptomicina em 389 isolados de *Xanthomonas* spp. detectaram isolados resistentes a esses produtos quando submetidos a baixas concentrações (50 mg mL⁻¹).

Ao comparar os extratos metanólicos e os óleos essenciais das três espécies em estudo, é possível inferir que as bactérias *R. solanacearum* e *X. campestris* pv. *viticola* são mais sensíveis aos extratos metanólicos testados. Kavitha e Satish (2011) também observaram atividade antibacteriana significativa entre os extratos metanólicos e etanólicos de *Embllica officinalis* GAERTN, *Acacia nilotica* (L.), *Carum copticum* L., *Pedaliium murex* Linn, *Hyptis suaveolens* (L.), *Millingtonia hortensis* Linn e *Eupatorium odoratum* L. contra as bactérias fitopatogênicas de interesse agrícola *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *malvacearum*, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, e *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*. A maior atividade dos extratos vegetais, provavelmente, decorre da elevada diversidade química, constituídas por diversas classes de produtos naturais, que podem conter diferentes princípios ativos, como alcaloides, terpenoides, flavonoides, cumarinas, glicosídeos cardíacos, saponinas, entre outros, os quais são compostos extremamente importantes e que possuem elevada atividade biológica (ZUANAZZI, 2002; MBATCHOU et al., 2010; MONTEIRO et al. 2005).

Apesar dos óleos essenciais das espécies *E. fruticosa*, *M. martiusii* e *G. platanifolia* terem apresentado atividade abaixo do observado com o oxiclreto, excetuando-se os resultados obtidos com *G. platanifolia* contra *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*, apresentam em sua composição compostos químicos com atividade antibacteriana comprovada. O óleo essencial das folhas de *Baccharis notoserigila* Griseb. apresentaram o espatulenol entre seus compostos majoritários e revelaram atividade antimicrobiana contra as bactérias gram-positivas *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, gram-negativa *Proteus mirabilis* e contra o fungo *Candida albicans* (COBOS et al., 2001). Resultado similar foi encontrado por Estanislau et al. (2001), que concluíram que o 1,8-cineol (eucaliptol) foi responsável pela atividade antimicrobiana do óleo essencial de

Eucalyptus myrcocorys atuando contra bactérias *S. aureus*, *E. coli* e *Salmonella choleraesuis*. Santos et al. (2005) estudando os componentes químicos presentes no óleo essencial de *Croton blanchetianus* Baill. observaram a presença de biciclogermacreno, E-cariofileno e espatulenol entre os compostos majoritários. Melo et al. (2013) relataram a atividade antimicrobiana do óleo essencial dessa espécie contra as bactérias *Aeromonas hydrophila*, *Listeria monocytogenes* e *Salmonella Enteritidis*.

As diferentes concentrações dos extratos metanólicos e óleos essenciais testados apresentaram um comportamento quadrático, com efeito significativo na inibição do crescimento de *R. solanacearum* e *X. campestris* pv. *viticola* (Apêndice C). De acordo com a equação obtida pode-se inferir que o extrato metanólico de *M. martiusii* pode promover o maior halo de inibição do crescimento bacteriano de *R. solanacearum* (3,74 mm) na concentração estimada de $676,87 \mu\text{g mL}^{-1}$, com decréscimo no diâmetro do halo a partir dessa concentração (Figura 3A). Em relação aos óleos essenciais observa-se que a espécie *M. martiusii* promoveu a maior inibição dessa bactéria, em que o aumento do diâmetro do halo de inibição do crescimento bacteriano foi proporcional ao aumento das concentrações testadas a partir da concentração estimada de $231,92 \mu\text{L mL}^{-1}$ (Figura 3B).

Amorim et al. (2011) estudando o efeito *in vitro* de diferentes doses de extratos vegetais e óleos essenciais sobre o crescimento de *R. solanacearum*, observou que o extrato de gengibre e óleos essenciais de citronela, cravo e gengibre proporcionaram uma significativa regressão a 5% de probabilidade de erro, constatando que o halo de inibição de crescimento da bactéria aumentou significativamente com o aumento da concentração dos óleos essenciais até a concentração de 3,75%, enquanto para o extrato de gengibre, o aumento do halo de inibição foi linear, ou seja, à medida que se aumentou a concentração do produto, houve aumento significativo do halo de inibição.

Em relação à bactéria *X. campestris* pv *viticola* não se detectou diferenças significativas para os resultados obtidos entre os extratos metanólicos das espécies *Eplingiella fruticosa* e *Gymneia platanifolia* na inibição desse fitopatógeno (Tabela 2). A análise de regressão revelou um modelo quadrático para o efeito dos extratos de ambas as espécies, podendo-se constatar que os maiores halos de inibição podem ser obtidos nas concentrações estimadas de $850 \mu\text{L mL}^{-1}$ e $712,5 \mu\text{L mL}^{-1}$ (Figura 4A), para os extratos das espécies *E. fruticosa* e *G. platanifolia*, respectivamente.

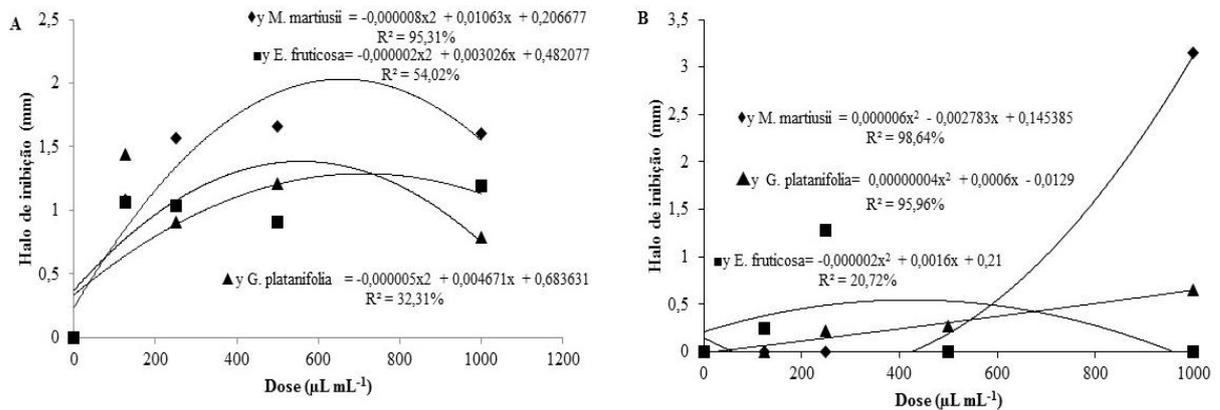


Figura 3. Halo de inibição do crescimento de *Ralstonia solanacearum* (Smith) em meio de cultura suplementado com diferentes concentrações de extratos metanólicos (A) e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. Feira de Santana, Bahia, 2016.

A eficácia do extrato etanólico de *Mikania glomerata* (guaco) foi avaliada sobre a *X. campestris* pv. *Campestris*, observando-se uma inibição de 38% quando utilizada a concentração de 1 g L⁻¹ e de 24% na concentração de 0,5 g L⁻¹ (VIGO-SCHULTZ et al., 2006). Resultado similar foi encontrado por Motoyama et al. (2003), estudando o efeito de diferentes concentrações do extrato cítrico comercial (constituído por ácidos ascórbico, cítrico e láctico, flavonóides e fitoalexinas cítricas) sobre a inibição do crescimento de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, concluindo que a partir de 100 ppm houve um aumento na inibição da bactéria, podendo se tornar até quatro vezes maior na concentração de 5000 ppm, quando comparado à concentração imediatamente inferior.

Para o efeito óleo essencial de *Gymneia platanifolia* contra a bactéria *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* a análise de regressão indicou o comportamento quadrático como o mais significativo. Verifica-se na equação um possível aumento do halo de inibição do crescimento bacteriano até à concentração estimada de 808,13 μL mL⁻¹ do óleo, onde pode-se obter maior halo de inibição (4,43mm) e a partir dessa concentração espera-se um decréscimo no diâmetro desse halo (Figura 4B).

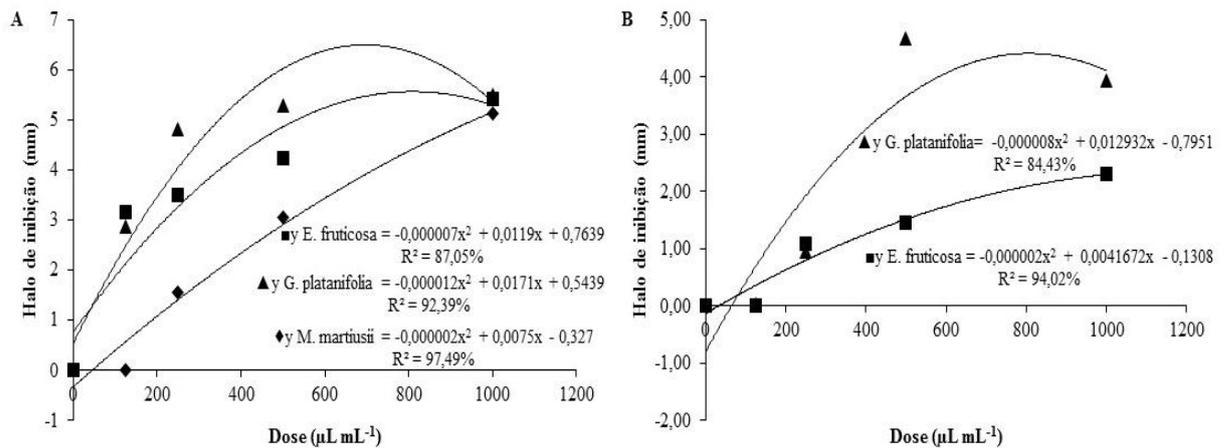


Figura 4. Halo de inibição do crescimento de *Xanthomonas campestris* pv *viticola* (Naydu) Dye em meio de cultura suplementado com diferentes concentrações de extratos metanólicos (A) e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. Feira de Santana, Bahia, 2016.

Efeito quadrático para doses de óleo essencial sobre o crescimento microbiano também foi verificado por Costa et al. (2009), onde constataram que nas maiores concentrações utilizadas (2, 4 e 8%), o óleo essencial de *O. basilicum* (manjeriço) houve maior inibição do crescimento de *Pectobacterium carotovorum* subsp. *Carotovorum* (agente causal da podridão mole), com formação de halos que variaram entre 10 e 17 mm. Resultados similares também foram encontrados por Silva et al. (2012) com o óleo dessa espécie, onde concentrações abaixo de 1% não inibiu o crescimento de *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*.

O teste de microdiluição em caldo, utilizado para a determinação da concentração inibitória mínima dos extratos demonstrou que os extratos das espécies *E. fruticosa* e *G. platanifolia* possibilitaram a inibição do crescimento bacteriano de *X. campestris* pv. *viticola* até a concentração de 500 µg mL⁻¹, enquanto que o extrato da espécie *M. martiusii* foi capaz de inibir em uma menor concentração (250 µg mL⁻¹) (Tabela 3), demonstrando maior efeito bacteriostático dessa espécie. Já para o efeito dos extratos contra a bactéria *R. solanacearum* foi possível observar que houve inibição do fitopatógeno até a concentração de (125 µg mL⁻¹, para ambas as espécies.

Tabela 3. Concentração inibitória mínima de extratos metanólicos e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore contra *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye e *Ralstonia solanacearum* (Smith). Feira de Santana, Bahia, 2016.

		CIM	
		Xcv	Rs
<i>E. fruticosa</i>	Extratos ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	500	125
<i>M. martiusii</i>		250	125
<i>G. platanifolia</i>		500	125
<i>E. fruticosa</i>	Óleos ($\mu\text{L mL}^{-1}$)	500	250
<i>M. martiusii</i>		1000	500
<i>G. platanifolia</i>		250	500
Controles	ADE	-	-
	DMSO	-	-

Xcv: *Xanthomonas campestris* pv. *viticola*; Rs: *Ralstonia solanacearum*. (-) Não houve inibição.

A atividade antibacteriana dos extratos metanólicos apresentada pode estar associada aos fitocompostos neles presentes, que conferem efeitos antimicrobianos significativos, atuando de diversas formas sobre as células bacterianas (GREY; HAMMER et al., 2011). Taninos, por exemplo, promove a precipitação de proteínas, proporcionando um efeito antibacteriano e antifúngico (MONTEIRO et al., 2005). A atividade antimicrobiana de alguns extratos pode estar relacionada à alta quantidade de compostos lipofílicos presentes neles, visto que a lipofilicidade está intimamente ligada à permeação através da camada lipídica dos microorganismos (TOKUYAMA, 2001). Para Kamel (2000) pesquisas realizadas com produtos naturais para o controle de doenças em plantas têm revelado resultados promissores, extremamente próximos aos encontrados em antibióticos comerciais.

A análise da concentração inibitória mínima dos óleos essenciais das espécies *G. platanifolia* e *E. fruticosa* apresentaram inibição do crescimento sobre *X. campestris* pv. *viticola*, até as concentrações de 250 e 500 $\mu\text{L mL}^{-1}$, respectivamente. Em contrapartida o óleo de *M. martiusii* inibiu a bactéria apenas na concentração mais elevada testada (1000 $\mu\text{L mL}^{-1}$). Deve-se salientar que a constituição química do óleo essencial da espécie *G. platanifolia* apresenta 95,45% de sesquiterpenos, consequentemente sua forte atividade antibacterina contra *X. campestris* pv. *viticola*, deve está associada a estes compostos.

Santos et al. (2015) avaliando a atividade antimicrobiana de *Martianthus leucocephalus* (Lamiaceae) sobre oito cepas bacterianas pelo método de microdiluição em

caldo, detectou níveis elevados de precursores biogénicos dos fenóis: p-cimeno (18,13%) e γ -terpineno (10,72%), bem como valores de CIMs entre 50 a 250 g mL⁻¹, com atividade antibacteriana mais ativa contra *Bacillus pumillus*, *E. coli* e *S. aureus* (50 μ g mL⁻¹). A análise da concentração inibitório mínima, contra a bactéria *R. solanacearum* revelou que os óleos essenciais das espécies *M. martiusii* e *G. platanifolia* foram ativos quando utilizada até a concentração de 500 μ L mL⁻¹, já o óleo essencial da espécie *E. fruticosa* foi capaz de inibir em concentração ainda menor (250 μ L mL⁻¹). Com isso é possível observar que o óleo essencial das três espécies estudadas no presente trabalho possui atividade antibacteriana significativa contra essa bactéria fitopatogênica. A atividade antimicrobiana exercida por terpenos, principais componentes dos óleos essenciais, e derivados tem sido amplamente pesquisada (SOUZA et al., 2011; QIU et al., 2011). Estudos relatam que o mecanismo de ação provável de terpenoides envolve a ruptura da membrana celular por compostos lipofílicos (LA STORIA et al., 2011; XU et al., 2008). Silva et al. (2011), constataram que a atividade antibacteriana do óleo essencial de coentro (*Coriandrum sativum* L.) se dá através de sua permeabilidade sobre a membrana plasmática de bactérias gram-positivas e gram-negativas, promovendo efeitos também sobre outras funções celulares, como os processos respiratórios, bomba de efluxo e potencial de membrana. Esse tipo de mecanismo de ação pode explicar a atividade antimicrobiana dos compostos químicos presentes no óleo essencial das espécies *E. fruticosa*, *G. platanifolia* e *M. martiusii* sobre as bactérias *X. campestris* pv. *viticola* e *R. solanacearum*.

CONCLUSÕES

Os óleos essenciais de *E. fruticosa*, *M. martiusii* e *G. platanifolia* apresentam como compostos majoritários o óxido de cariofileno, espatulenol e E-cariofileno; epi-longipinanol, α -humuleno e E-cariofileno e espatulenol, óxido de cariofileno e α -muurolol, respectivamente; O extrato metanólico e o óleo essencial das espécies *E. fruticosa*, *M. martiusii* e *G. platanifolia* mostraram-se promissores para o controle da *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* e *Ralstonia solanacearum*; Estudos posteriores devem ser realizados, buscando o fracionamento do extrato, testes em *in vivo* e isolamento dos prováveis metabólitos responsáveis pela atividade antibacteriana das espécies vegetais estudadas.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Bahia (FAPESB) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro à realização do projeto. A Universidade do Estado da Bahia (UNEB) e à Embrapa Semiárido pela colaboração nas análises de atividade antimicrobiana.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Carol Stream, Illinois-USA: **Allured Publishing Corporation**©, 4. ed, 2007. 804p.
- AFONSO, M. S.; SANT'ANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas de oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus officinalis*L.). **Nutrire**, v.35, n. 1, p.129-148, 2010.
- ALARCON-AGUILAR F. et al. Investigation on the hypoglycemic effects of extracts of four Mexican medicinal plants in normal and alloxan-diabetic mice. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 4, p. 383-386, 2002.
- AMORIM, E. P. R. et al. Atividade antibacteriana de óleos essenciais e extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Ralstonia Solanacearum* em mudas de bananeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n. esp., p.392-398, 2011.
- ARAUJO, J. S. P. **Perfil epidemiológico e subsídios para o controle de *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Nayudu) Dye, agente do cancro bacteriano da videira (*Vitis vinifera*) no Brasil**. 2001. Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.
- BAUER, A.W., KIRBY, M.D.K., SHERRIS, J.C., TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 45, p. 493-496, 1966.
- BENELLI, G. et al. Repellence of *Hyptis suaveolens* whole essential oil and major constituents against adults of the granary weevil *Sitophilus granarius*. **Bulletin of Insectology**, v.65, n.2, p.177-183, 2012.
- BOZIN, B. et al. Characterization of the volatile composition of essential oils of some Lamiaceae species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.54, n.5, p.1822-1828, 2006.
- BRUM, R. B. C. S. **Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos**. 2012. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, Tocantins, 2012.
- CALDAS, G. F. R. et al. Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Hyptis martiusii* Benth. (Lamiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.137, p.886– 892, 2011.
- COBOS, M. I. et al. Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Baccharis notoserigila*. **Planta Medica**, v.67, n.1, p.84-86, 2001.
- COSTA, J. G. M. et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p.304–309, 2005.

COSTA, V. C. **Avaliação de acibenzolar-s-metil, extrato cítrico e fermentado bacteriano no controle da murcha-bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) do tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill)**. 2007. 48p. Dissertação de mestrado-Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Paraná, 2007.

COSTA, C. M. G. R. et al. Efeito inibitório do óleo essencial de manjeriço sobre o crescimento *in vitro* de *Erwinia carotovora*. **Tecnologia e Ciência Agropecuária**, v.3, p.35-38, 2009.

ESTANISLAU, A. A. et al. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies de Eucalyptus cultivadas em Goiás. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.11, p.95-100, 2001.

FERNANDES, E. S. et al. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, v. 569, n.3, p.228-236, 2007.

GREAY, S. J.; HAMMER, K. A. Recent developments in the bioactivity of mono and diterpenes: anticancer and antimicrobial activity. **Phytochemistry Reviews**, v.14, p.1-6, 2011.

HUSSAIN, A. I. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 108, n.3, p. 986-995, 2008.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Informações sobre culturas permanentes**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 20 dez. 2015.

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA)**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/prevsaf/>>. Acesso em: 24 Fev. 2016.

KAMEL, C. A novel look at a classic approach of plant extracts. **Feed Mix – The International Journal on Feed, Nutrition and Technology**, v.9, n.6, p.19-24, 2000.

KAVITHA, H.U.; SATISH, S. Eco- friendly management of plant pathogens by some medicinal plant extracts. **Journal of Agricultural Technology**, v. 7, n. 2, p.449-461, 2011.

LA STORIA, A. et al. Atomic force microscopy analysis shows surface structure changes in carvacrol-treated bacterial cells. **Research in Microbiology**, v.162, p.164-172, 2011.

LIMA, M. F.; MOREIRA, W. A. Doenças causadas por bactérias. In: LIMA, M.F.; MOREIRA, W.A. (Eds.). **Uva de mesa: fitossanidade**. Petrolina, PE: Embrapa Semiárido; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, p.27-34, 2002.

LIMA, M. F. **Uva de mesa: Fitossanidade**. 2 ed. Ver. Ampl. Brasília, DF: Embrapa, 2012, 11p.

LIMA, M. A. G. **Óleos essenciais e silício para o controle da murcha bacteriana do tomateiro**. 2016. Tese de doutorado. UFRPE, Recife-PE, 2016.

- MARQUES, E.; IESUGI, C. H.; FERREIRA, M. A. S. V. Sensitivity to copper in *Xanthomonas campestris* pv. *Viticola*. **Tropical Plant Pathology**, v. 34, n. 6, p. 406-411, 2009.
- MBATCHOU, V.C.; ABDULLATIF, S; GLOVER, R. Phytochemical Screening of Solvent Extracts from *Hyptis suaveolens* LAM for Fungal Growth Inhibition. **Pakistan Journal of Nutrition**, v.9, n.4, p.358-361, 2010.
- MELO, G. F. A. et al. The sensitivity of bacterial foodborne pathogens to *Croton blanchetianus* Baill essential oil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.44, n.4, p.1189-1194, 2013.
- MELO, P. C. T.; VILELA, N. J. Desempenho da cadeia agroindustrial brasileira de tomate na década de 90. **Revista Horticultura Brasileira**, v.22, n.1, p.154-160, 2004.
- MENEZES, I. A. C. et al. Antinociceptive effect and acute toxicity of the essential oil of *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth. in mice. **Fitoterapia**, v.78, p.192-195, 2007.
- MONTEIRO, J. M., ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v.28, n.5, p.892-896, 2005.
- MOTOYAMA, M. M. et al. Efeito antimicrobiano de extrato cítrico sobre *Ralstonia solanacearum* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. **Maringá**, v. 25, n. 2, p. 509-512, 2003.
- QIU, J. et al. Subinhibitory concentrations of perilla oil affect the expression of secreted virulence factor genes in *Staphylococcus aureus*. **Plos One**, v.6, n.1, 2011.
- QUEZEDO-DUVAL, A. M. et al. Sensibilidade a cobre, estreptomicina e oxitetraciclina em *Xanthomonas* spp. associadas à mancha-bacteriana do tomate para processamento industrial. **Horticultura Brasileira**, v. 21, p.670-675, 2003.
- RATTANATA, N. et al. Antioxidant and antibacterial properties of selected Thai weed extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4, n. 11, p.890–895, 2014.
- SANTOS, F. A et al. Antinociceptive effect of leaf essential oil from *Croton sonderianus* in mice. **Life Science**, v.77, n.23, p.2953-2963, 2005.
- SANTOS, F. S. et al. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 59-63, 2007.
- SANTOS, M. M. et al. Estudos dos constituintes químicos e atividade antibacteriana do óleo essencial de *Lippia gracilis* a *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* "in vitro". **Summa phytopathologica**, v.40, n.3, 2014.
- SANTOS, S. N. et al. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Hyptis leucocephala*. **Atas de Saúde Ambiental**, v. 2, n. 3, p.3-11, 2015.

SILVA C. L. et al. Óleos essenciais e extratos vegetais no controle da podridão mole em alface crespa. **Horticultura Brasileira**, v.30, p.632-638, 2012.

SILVA, D. M. M. H.; BASTOS, C. N. Atividade Antifúngica de Óleos Essenciais de Espécies de *Piper* Sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.2, 2007.

SILVA, F. et al. Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: its antibacterial activity and mode of action evaluated by flow cytometry. **Journal of Medical Microbiology**, v.60, p.1479-1486, 2011.

SILVA, L. L. et al. Composição química, atividade antibacteriana *in vitro* e toxicidade em *Artemia salina* do óleo essencial das inflorescências de *Ocimum gratissimum* L., Lamiaceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v.20, n.5, p.700-705, 2010.

SILVA, W. J. et al. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**, v.99, p.3251-3255, 2008.

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.

SOUZA, AB et al. Antimicrobial activity of terpenoids from *Copaifera langsdorffii* Desf. against cariogenic bacteria. **Phytotherapy Research**, v.25, n.2, p. 215-20, 2011.

TOKUYAMA, R. et al. Structure-activity relationship (SAR) studies on oxazolidinone antibacterial agents. 2. Relationship between lipophilicity and antibacterial activity in 5-thiocarbonyl oxazolidinones. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.49, n.4, p.353, 2001.

VALERIANO, C. et al. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais em bactérias patogênicas de origem alimentar. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.14, n.1, p.57-67, 2012.

VEIGA-JUNIOR V. F.; MELLO, J. C. P. As monografias sobre plantas mediciniais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p.464-471, 2008.

VIGO-SCHULTZ, S. C. et al. Avaliação da eficácia da tintura etanólica de guaco (*Mikania glomerata*) no controle da podridão negra (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) em couve-flor. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, p.515-524, 2006.

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

XU, J. et al. Genetic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains from China. **European Journal of Plant Pathology**, v. 125, p. 641-653, 2009.

XU, J. et al. The antibacterial mechanism of carvacrol and thymol against *Escherichia coli*. **Letters in Applied Microbiology**, v.47, p.174-179, 2008.

ZUANAZZI, J. A. S. Flavonoides. In: Simões, C. M. O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 4 ed. Florianópolis: Editora Universitária, 2002.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* e *Medusantha martiusii* SOBRE O CRESCIMENTO DE FUNGOS CAUSADORES DE PODRIDÕES PÓS-COLHEITA DA VIDEIRA

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* e *Medusantha martiusii* SOBRE O CRESCIMENTO DE FUNGOS CAUSADORES DE PODRIDÕES PÓS-COLHEITA DA VIDEIRA

Uiliane Soares dos Santos^{1*}; Lenaldo Muniz de Oliveira²; Pedro Martins Ribeiro Júnior³; Edna Santos de Barros³; Angélica Maria Lucchese⁴; Ana Valéria Vieira de Souza³

¹Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), *uilianesoares@hotmail.com

²Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)

³Embrapa Semiárido

⁴Departamento de Ciências Exatas da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS)

RESUMO: A região Nordeste é a segunda maior produtora de uva no Brasil, entretanto, a ocorrência de problemas fitossanitários na fase pós-colheita pode restringir sua rentabilidade. Entre esses problemas pode citar as doenças fúngicas causadas por fitopatógenos causadores de podridões pós-colheita, como o *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl, *Rhizopus sp.*, *Aspergillus niger* Van Tieghem e *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link. Um dos enfoques da agricultura moderna é o controle alternativo de doenças, o qual inclui o uso de produtos de plantas medicinais, como extratos e óleos essenciais. Neste contexto, destaca-se a família Lamiaceae, cujas espécies são amplamente estudadas, apresentando atividades biológicas importantes, entre elas elevada atividade antimicrobiana. Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar a ação antifúngica de extratos metanólicos e óleos essenciais das espécies *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore sobre o crescimento micelial dos fungos pós-colheita da videira *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Lasiodiplodia theobromae* e *Rhizopus sp.* O material vegetal foi coletado na Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Bahia. Suas folhas foram secas em temperatura ambiente durante sete dias e, em seguida, foram destinadas ao preparo dos extratos metanólicos e à extração dos óleos essenciais. O teste de crescimento micelial foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido, utilizando-se discos contendo estruturas dos fungos em estudo, os quais foram depositados no centro de placas de Petri contendo meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) homogeneizado com os extratos metanólicos e óleos essenciais em diferentes concentrações. Para avaliação da inibição do crescimento micelial foram realizadas medições do crescimento radial da colônia em dois eixos ortogonais. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as suas médias comparadas entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro e para as concentrações análise regressão. Os extratos metanólicos e os óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* e *Medusantha martiusii* apresentaram ação antifúngica *in vitro* sobre fungos causadores de podridões pós-colheita da uva, destacando-se o extrato metanólico de *Medusantha martiusii* e o óleo essencial de *Eplingiella fruticosa*.

Palavras-chave: Controle alternativo. Extrato metanólico. Óleos essenciais. Fitopatógenos.

ABSTRACT: The Northeast region is the second largest grape producer in Brazil. However, the occurrence of phytosanitary problems in the post-harvest stage can narrow profitability. Among these problems there may be mentioned fungal diseases caused by plant pathogens causing postharvest decay, such as *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl, *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* Van Tieghem and *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link. One of the approaches of modern agriculture is the alternative disease control, which includes the use of herbal products, such as essential oils and extracts. In this context, there is the Lamiaceae family, whose species are widely studied, with important biological activities, including high antimicrobial activity. The objective of this study was to evaluate the antifungal activity of methanol extracts and essential oils of *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore species on the mycelial growth of the fungus post-harvest vine *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Lasiodiplodia theobromae* and *Rhizopus* sp. The plant material was collected at the State University of Feira de Santana (UEFS), Bahia. The leaves were dried at ambient temperature for seven days and then were aimed at the preparation of the methanolic extracts and extraction of essential oils. The mycelial growth test was conducted in Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido, using disks containing fungal structures studied, which were deposited in the center of Petri dishes containing PDA (potato, dextrose and agar) culture medium homogenized with the methanolic extracts and essential oils in different concentrations. To evaluate the inhibition of mycelial growth were carried out measurements of the radial growth of the colony in two orthogonal axes. The data were submitted to analysis of variance and their means compared by Tukey test at 5% probability of error and the analysis concentrations regression. The methanol extracts and essential oils of *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* and *Medusantha martiusii* presented antifungal activity in vitro on fungi causing grape post-harvest rots, highlighting the methanolic extract of *Medusantha martiusii* and essential oil of *Eplingiella fruticosa*.

Keywords: Alternative control. Methanolic extract. Essencial oils. Plant pathogens.

INTRODUÇÃO

A introdução da videira (*Vitis* spp.) no Brasil ocorreu pelos Portugueses apresentando grande desenvolvimento devido à excelente adaptação às condições de clima e solo (POMMER, 2003; POMMER; MAIA, 2003). Segundo dados do IBGE, em 2015 a área plantada com videira no Brasil atingiu 80.388 hectares e uma produção de 1.482.554 toneladas de frutos. A região Sul aparece em primeiro lugar na produção de uva no Brasil (67,5%), seguida da região Nordeste (21,3%), contribuindo significativamente com a produção nacional (IBGE, 2015).

Entretanto, apesar do elevado nível tecnológico utilizado no manejo da videira, alguns aspectos relacionados à pós-colheita têm restringido a comercialização de uvas (ARTÉS-HERNANDEZ; TOMÁS-BARBERÀN, 2006), como as doenças pós-colheita, que representam uma das causas mais severas de perdas de frutas e hortaliças, elevando o custo de produção (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Nesse contexto, destacam-se as infecções fúngicas, que são responsáveis por 80 a 90% do total das perdas pós-colheitas causadas por agentes microbianos (OLIVEIRA et al., 2006).

As doenças na pós-colheita de uva podem ser provenientes de infecções quiescentes ou adquiridas. As infecções quiescentes, geralmente, iniciam-se na fase de pré-colheita, quando os frutos ainda se encontram unidos às plantas, sendo imprescindível conhecimento do comportamento da doença para o seu controle. Porém, a partir do momento que os frutos são colhidos, estes sofrem alterações fisiológicas, tornando-se, em geral, mais suscetíveis ao ataque de patógenos, que normalmente se encontram em estado de quiescência (CAVALCANTI et al., 2005; CHITARRA; CHITARRA, 2005). Entre os fungos causadores de infecções quiescentes destaca-se o *Lasiodiplodia theobromae*, responsável por causar a podridão-de-diplodia, que ao infectar a planta pode causar morte descendente, podridão seca ou botriodiplodiose (PEARSON, 1994). E, no caso de infecções adquiridas, que ocorrem por ferimentos após a colheita, destacam-se os fungos dos gêneros *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, que manifestam rapidamente sintomas de podridões (OLIVEIRA et al., 2006).

Algumas alternativas de controle são utilizadas no intuito de reduzir a atividade desses patógenos e minimizar a ocorrência de podridões na videira. Geralmente, o controle de doenças pós-colheitas de frutos baseia-se principalmente na utilização de fungicidas sintéticos (LI et al., 2011). Porém, estes podem causar elevados danos, tanto ambientais quanto para a saúde do homem, principalmente quando são aplicados pós-colheita em produtos *in natura* (PERES; MOREIRA, 2003).

Um dos enfoques da agricultura moderna é o controle alternativo de doenças, o qual inclui o uso de produtos de plantas medicinais, devido a sua imensa riqueza química, sendo detentoras de princípios ativos com elevada atividade antimicrobiana, tornando-se fontes potenciais de moléculas que podem ser empregadas na defesa de plantas contra fitopatógenos (RODRIGUES et al., 2006). Esses compostos podem ser pertencentes a várias classes distintas de substâncias químicas, como alcaloides, terpenos, lignanas, flavonoides, cumarinas, benzenoides, quinonas, xantonas, lactonas e esteroides, entre outras (DI STASI, 1996). Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto e óleo essencial, obtidos a partir de plantas medicinais, indicam um elevado potencial antimicrobiana no controle de fitopatógenos (CUNICO et al., 2003), tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas (LYON et al., 1995; SCHWAN-ESTRADA, 2000).

A família Lamiaceae possui aproximadamente 300 gêneros e 7.500 espécies distribuídas nos diferentes continentes (ALARCON-AGUIAR et al., 2002; AFONSO, 2010). Em função da composição fitoquímica, as plantas pertencentes a essa família são alvos constantes de pesquisas, pois possuem importante valor econômico (VEIGA-JÚNIOR; MELLO, 2008). Devido aos grupos químicos presentes nas espécies dessa família, estudos têm revelado elevada ação tóxica, com propriedades antifúngicas comprovadas, como verificado nas espécies *Thymus vulgaris*, *Ocimum gratissimum* e *Hyptis ovalifolia* Benth. (BENINI et al., 2010; AL-RAHMAH et al., 2013; SOUZA et al., 2002).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a ação fungicida *in vitro* de extratos metanólicos e óleos essenciais das espécies *M. martiusii*, *E. fruticosa* e *G. platanifolia* (Lamiaceas) sobre o crescimento micelial dos fungos pós-colheita da uva *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizopus sp.*, *Aspergillus niger* e *Cladosporium herbarum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do material vegetal

As folhas de *E. fruticosa* e *M. martiusii* foram provenientes da Coleção de Plantas Medicinais e Aromáticas da Unidade Experimental do Horto Florestal da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), Bahia, Brasil, localizada a 12°16'00" de latitude sul e 38°58'00" de longitude oeste e as folhas de *G. platanifolia* foram coletadas no campus da Universidade de Feira de Santana, Bahia, Brasil, localizada a 12°12'08" de latitude sul e

38°58'15" de longitude oeste. As coletas ocorreram nos meses de Julho, Agosto e Setembro de 2014.

Obtenção dos extratos metanólicos

Após secagem do material em temperatura ambiente (Figura 1A), por sete dias, o material vegetal foi pulverizado em moinhos de facas e, em seguida, submetido à extração, por três vezes consecutivas, por maceração com metanol durante 72 horas. Os extratos metanólicos (EM) foram concentrados em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, em temperaturas de 40-42°C (Figura 1B). O resíduo do solvente do extrato metanólico foi retirado por evaporação em capela de exaustão.

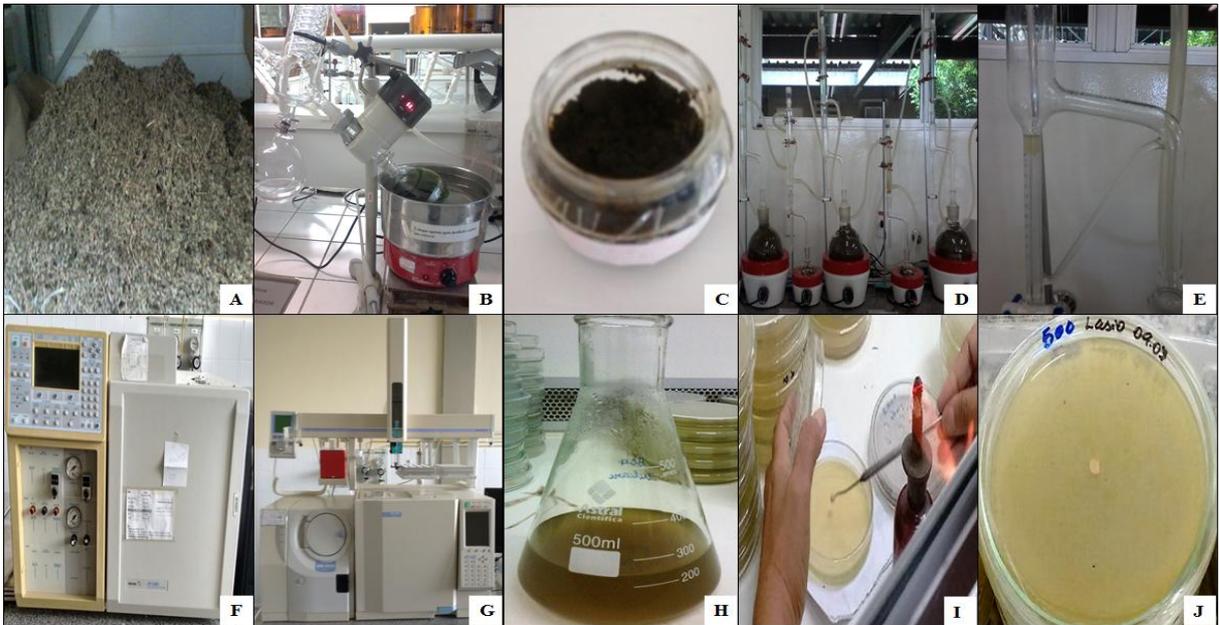


Figura 1. Metodologia utilizada para avaliação da atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos metanólicos. A) Folhas secas em temperatura ambiente, Laboratório de Produtos Naturais (UEFS), Feira de Santana - BA. B) Concentração do extrato em evaporador rotatório (rota evaporador). C) Extrato metanólico bruto. D) Obtenção de óleo essencial - Processo de hidrodestilação em aparelho do tipo Clevenger. E) Óleo essencial extraído na coluna graduada do aparelho de Clevenger. F) Cromatógrafo a gás acoplado a um Detector de Ionização em Chama CG/DIC. G) Cromatógrafo acoplado ao Espectrômetro de Massa (CG/EM). H) extrato em meio BDA homogeneizado com DMSO. I) Transferência de discos contendo estruturas fúngicas ao meio de cultura. J) Fungos inoculados em meio BDA com extrato metanólico.

Obtenção e caracterização química do óleo essencial

Para a extração dos óleos, 100g de folhas secas foram adicionadas em balão de vidro contendo água destilada em volume suficiente para cobertura total do material vegetal. O método de extração foi por hidrodestilação, utilizando-se o aparelho de Clevenger, acoplados em balões de vidro, que foram aquecidos por mantas térmicas elétricas com termostato (Figura 1D). A extração foi conduzida durante 3 horas, contadas a partir da condensação da primeira gota, sendo verificado o volume de óleo extraído na coluna graduada do aparelho de Clevenger (Figura 1E). Após a extração o óleo foi coletado utilizando pipeta do tipo Pasteur e posteriormente foi adicionado ao óleo o sulfato de sódio anidro para eliminação da água residual, em seguida o óleo foi acondicionado em frasco de cor âmbar e mantidos em freezer a uma temperatura de 4°C, até a realização das análises química do óleo e da atividade antimicrobiana.

Para a análise da composição química, 25 mg dos óleos essenciais foram previamente diluídos em diclorometano. A quantificação foi realizada por Cromatografia de Fase Gasosa acoplada a um Detector de Ionização em Chama (CG/DIC) (Figura 1F). Para a identificação dos constituintes foi utilizada a Cromatografia de Fase Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas (CG/EM) (Figura 1G). Na análise por CG/DIC foi utilizado um Cromatógrafo Varian® CP-3380, equipado com DIC e coluna capilar Chrompack CP-SIL 5 (30 m x 0.5 mm), espessura do filme 0.25 µm, temperatura do injetor 220 °C e do detector 240 °C, hélio como gás de arraste (1 mL.min⁻¹), com programa de temperatura do forno de: 60 a 240 °C (3 °C.min⁻¹), e isoterma de 240 °C por 20 min. As análises por CG/EM foram realizadas em Cromatógrafo Shimadzu® CG-2010 acoplado a Espectrômetro de Massas CG/MS-QP 2010 Shimadzu®, coluna capilar DB-5ms (30 m x 0.25 mm), espessura do filme 0.25 µm, temperatura do injetor 220 °C, gás de arraste hélio (1 mL.min⁻¹), temperatura da interface e da fonte de ionização 240 °C, energia de ionização 70 eV, corrente de ionização 0.7 kV e programa de temperatura semelhante à descrita acima.

A identificação dos constituintes foi realizada através do cálculo dos índices de Kovats, obtidos pela co-injeção da amostra com uma série homóloga de n-alcanos (C8 a C24), da comparação dos espectros de massas com a biblioteca do equipamento e da consulta à literatura especializada (ADAMS, 2007). Já a quantificação do percentual relativo dos constituintes identificados foi obtida com base nas áreas dos picos cromatográficos correspondentes, pelo método da normalização.

Atividade antifúngica

O teste de crescimento micelial foi realizado no Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido no município de Petrolina, PE. Os fungos utilizados foram provenientes da coleção de fungos do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Semiárido. Para a avaliação da atividade antifúngica foi empregada a metodologia difusão em ágar baseado na técnica descrita por Fernandes et al. (2015) e Venturoso et al. (2011a) com adaptações. Os extratos e óleos foram dissolvidos com 3 mL de DMSO (Dimetilsulfóxido) para homogeneização ao meio BDA (Batata, Dextrose e Ágar) fundente (Figura 1H), suplementado com diferentes concentrações do extrato (125, 250, 500 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$) e dos óleos essenciais (125, 250, 500 e 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$). Após a solidificação do meio foram depositados no centro das placas de Petri discos de 5 mm de diâmetro contendo as estruturas fúngicas (Figura 1I e 1J) de *L. theobromae* e *Rhizopus sp.* com 2 dias de crescimento e de *A. niger* e *C. herbarum* com 15 e 20 dias de crescimento, respectivamente. Como testemunhas utilizou-se o DMSO como controle negativo, fungicida comercial (Rovral) na concentração 2 mL L^{-1} como controle positivo e o meio BDA como testemunha absoluta. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com tratamentos distribuídos em esquema fatorial 3 (espécies vegetais) x 2 (extratos e óleos) x 4 (concentrações) + 3 (testemunhas), com 5 repetições por tratamento.

Para avaliação do crescimento micelial das colônias fúngicas, após incubação à temperatura ambiente por 2 dias para *L. theobromae* e *Rhizopus sp.*, 15 dias para *A. niger* e 20 dias para *C. herbarum*, foram realizadas medições do crescimento radial da colônia em dois eixos ortogonais com auxílio de uma régua. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as suas médias comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro, e para as concentrações foram realizadas análise de regressão.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização química de óleos essenciais

Os óleos essenciais apresentaram teores de 0,79%, 1,44% e 1,70%, respectivamente para as espécies *Gymneia platanifolia*, *Eplingiella fruticosa* e *Medusantha martiusii*. As análises dos cromatogramas dos óleos essenciais permitiram a identificação química de 43, 39 e 22 constituintes das espécies *E. fruticosa*, *M. martiusii*, e *G. platanifolia*, respectivamente,

com ocorrências de monoterpenos e sesquiterpenos, totalizando 82,93, 89,1 e 67,37% dos compostos identificados, respectivamente (Apêndice A). O óleo essencial de *E. fruticosa* apresentou como compostos majoritários o óxido de cariofileno (12,63%), espatulenol (9,23%), E-cariofileno (8,67%), biciclogermacreno (6,40%) e 1,8-cineol (5,30%). Para a espécie *M. martiusii* as substâncias majoritárias foram epi-longipinanol (15,03%), α -humuleno (14,90%), E-cariofileno (9,83%), 1,8-cineol (7,40%), δ -3-careno (5,17%). E para a espécie *G. platanifolia* os compostos majoritários foram espatulenol (27,93%), óxido de cariofileno (10,23%), α -muurolol (5,57%) e α -cadinol (4,73%) (Tabela 1).

Tabela 1. Compostos majoritários presentes nos óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (EF), *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (GP) e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (MM). Feira de Santana, Bahia, 2016.

Compostos	IK _{lit}	IK _{calc}	EF (%)	MM (%)	GP (%)
δ -3-careno	1011	1013	-	5,17 \pm 0,74	-
1,8-cineol	1031	1032-35	5,93 \pm 0,75	7,40 \pm 0,66	-
E-cariofileno	1419	1421-26	8,67 \pm 0,70	9,83 \pm 0,06	0,50 \pm 0
α -humuleno	1454	1456-60	1,53 \pm 0,21	14,9 \pm 0,36	0,70 \pm 0
biciclogermacreno	1496-1500	1497-1501	6,40 \pm 2,41	3,07 \pm 0,49	-
epi-longipinanol	1563	1564	-	15,03 \pm 1,08	-
espatulenol	1578-83	1579-84	9,23 \pm 1,52	0,33 \pm 0,06	27,93 \pm 0,71
óxido de cariofileno	1583	1584-87	12,63 \pm 1,29	2,63 \pm 0,40	10,23 \pm 0,29
α -muurolol	1646	1648	-	-	5,57 \pm 0,47
α -cadinol	1654	1655	1,33 \pm 0,42	-	4,73 \pm 1,12

*KI_{lit}= índice de Kovats da literatura; IK_{calc} = índice de Kovats calculado; (t): traços do composto.

Menezes et al. (2007) estudando a espécie *E. fruticosa* identificaram como compostos majoritários o biciclogermacreno (12,32%), 1,8-cineol (16,86%), α -pineno (11,32%) e β -cariofileno (8,82%). Já Silva et al. (2008) identificaram os compostos espatulenol (10,23%), β -cariofileno (9,79%), biciclogermacreno (8,57%) e cânfora (8,12%), como majoritários dessa

espécie. Os compostos espatulenol, biciclogermacreno e 1,8-cineol também estão presentes entre os majoritários do óleo essencial de *E. fruticosa* avaliada no presente trabalho.

Em estudos com a espécie *M. martiusii* Costa et al. (2005) observaram que os constituintes químicos majoritários do óleo essencial dessa espécie foram 1,8-cineol (24,3%) e o δ -3-careno (22,5%). Ambos os constituintes também foram encontrados neste trabalho como majoritários, porém em uma menor porcentagem 7,4% e 5,17%, respectivamente. Entretanto, Caldas et al. (2011) identificaram como compostos majoritários o biciclogermacreno (10,60%), trans-cariofileno (9,21%), óxido de cariofileno (7,4%), 1,8-cineol (7,01%), 3-careno (6,88%) e ledeno (5,41%) das folhas dessa espécie.

É importante ressaltar que um dos compostos majoritários presente no óleo essencial de *M. martiusii*, o α -humuleno, possui efeito anti-inflamatório, inibindo significativamente a expressão da ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e óxido nítrico (FERNANDES et al., 2007). Esse composto é a base do fitofármaco Acheflan®, primeiro fitoterápico produzido completamente no Brasil, a partir do óleo essencial da espécie *Varronia curassavica* (anteriormente designada *Cordia verbenacea* DC.), que apresenta 2,3-2,9% de α -humuleno. Dessa forma, são importantes estudos posteriores que possam avaliar a atividade anti-inflamatória do óleo essencial de *M. martiusii*, já que este apresentou uma porcentagem de 14,90% de α -humuleno, quantidade superior a utilizada no fitofármaco Acheflan®.

Os sesquiterpenos espatulenol e óxido de cariofileno aparecem em maior porcentagem entre as espécies *E. fruticosa* e *G. platanifolia*. Outros trabalhos também reportam a presença desses constituintes voláteis na composição química do óleo essencial de espécies pertencentes a família Lamiaceae, como *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. e *Ocimum basilicum* L. (BENELLI et al. 2012, HUSSAIN et al., 2008).

Atividade antifúngica

O resultado da análise de variância indicou diferença significativa na atividade antifúngica dos extratos metanólicos e óleos essenciais sobre os fitopatógenos utilizados no presente estudo (Apêndice D). O extrato metanólico da espécie *M. martiusii* apresentou maior atividade sobre o crescimento micelial dos quatro fungos estudados, *A. niger*, *C. herbarum*, *L. theobromae* e *Rhizopus* sp., quando comparado com os demais extratos. Porém, o fungicida comercial tomado como controle promoveu os menores valores de diâmetro do crescimento micelial para todos os fitopatógenos, exceto quando comparado com o extrato metanólico de *M. martiusii* contra *L. theobromae*, não havendo diferença estatística entre estes tratamentos

(Tabela 2). Contudo, os extratos metanólicos das espécies *E. fruticosa* e *M. martiusii* apresentaram atividade superior contra os fungos *L. theobromae* e *Rhizopus* sp. em relação ao controle negativo (BDA).

Estudos realizados com extratos metanólicos de folhas de *Acacia nilótica* L., *Sida cordia*, *Tinospora cordifolia* Willd, *Withania somnifer* L. e *Ziziphus mauritiana* Lam, demonstraram atividade antifúngica significativa contra *Aspergillus flavus* Link, *Dreschlera turcica* (Pass.) e *Fusarium verticillioides* (Sacc.) (MAHESH; SATISH, 2008). Este resultado é similar ao encontrado para o extrato de *M. martiusii* que promoveu a maior atividade antifúngica sobre todos os fitopatógenos estudados, em relação aos demais extratos.

Quando comparados os óleos essenciais das três espécies em estudo, pode-se destacar a espécie *E. fruticosa*, que apresentou a maior atividade antifúngica sobre o crescimento micelial da maioria dos fitopatógenos avaliados (*Aspergillus niger*, *Lasiodiplodia theobromae* e *Rhizopus* sp.), contudo, verifica-se que os óleos essenciais das espécies *E. fruticosa*, *M. martiusii* e *G. platanifolia* também apresentaram atividade superior contra os fungos *Lasiodiplodia theobromae* e *Rhizopus* sp. em relação ao controle negativo (BDA). Verifica-se ainda que óleo essencial de *G. platanifolia* promoveu o menor crescimento micelial do fungo *C. herbarum*, quando comparado com as demais espécies. Apesar dos resultados promissores, todos os óleos testados apresentaram atividade inferior estatisticamente em relação ao fungicida controle (Tabela 2).

O óleo essencial da espécie *Erigeron ramosus* (Walt.) promoveu elevada atividade antifúngica contra os fitopatógenos *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) (70,3%), *Phytophthora capsici* (Leonian) (63,4%), *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersicon* (58,2%), *Colletotrichum capsici* Sacc. (54,6%) e *Rhizoctonia solani* Kuhn (54,6%). E ao analisar seus constituintes químicos, foi possível observar como compostos majoritários o β -cariofileno (24,0%), α -humuleno (14,5%), 1,8-cineol (9,0%), eugenol (7,2%), globulol (7,1%), óxido de cariofileno (5,2%), δ -cadineno (5,0%) e α -copaeno (4,9%) (RAHMAN et al., 2010). No presente estudo, foi observada a presença dos compostos óxido de cariofileno e 1,8-cineol como compostos majoritários do óleo essencial da espécie *E. fruticosa* e, do mesmo modo, a composição química de *G. platanifolia* também apresentou o óxido de cariofileno entre os compostos majoritários. Como os óleos essenciais das duas espécies citadas apresentaram maior inibição dos fitopatógenos em estudo, pode-se inferir que a sua atividade antifúngica possa está relacionada com a presença desses compostos, assim como os demais compostos que aparecem em maior porcentagem.

Tabela 2. Diâmetro do crescimento micelial (cm) dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl, *Rhizopus sp.*, *Aspergillus niger* Van Tieghem e *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link. submetidos a extratos metanólicos e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. Feira de Santana/BA, 2016.

<i>Lasiodiplodia theobromae</i>		
	Extrato metanólico	Óleo essencial
<i>E. fruticosa</i>	8,20 cB	5,58 bA
<i>G. platanifolia</i>	9,00 cB	7,01 dA
<i>M. martiusii</i>	7,73 dB	6,07 cA
BDA	9,00 d	9,00 e
DMSO	9,00 d	9,00 e
Fungicida	0,50 a	0,50 a
CV (%)	2,14	6,18
<i>Rhizopus sp.</i>		
	Extrato metanólico	Óleo essencial
<i>E. fruticosa</i>	7,07 cB	5,10 bA
<i>G. platanifolia</i>	8,38 dB	7,08 dA
<i>M. martiusii</i>	6,58 bB	6,38 cA
BDA	9,00 e	9,00 e
DMSO	9,00 e	9,00 e
Fungicida	3,75 a	3,75 a
CV (%)	3,38	3,40
<i>Aspergillus niger</i>		
	Extrato metanólico	Óleo essencial
<i>E. fruticosa</i>	7,59 bB	7,37 bA
<i>G. platanifolia</i>	8,41 cA	8,05 dB
<i>M. martiusii</i>	5,89 aA	8,05 dB
BDA	7,63 b	7,74 c
DMSO	7,60 b	7,84 c
Fungicida	5,64 a	5,64 a
CV (%)	6,79	3,40
<i>Cladosporium herbarum</i>		
	Extrato metanólico	Óleo essencial
<i>E. fruticosa</i>	4,18 dB	3,85 dA
<i>G. platanifolia</i>	3,97 cB	3,05 bA
<i>M. martiusii</i>	3,35 bA	3,94 dB
BDA	4,03 c	3,64
DMSO	4,36 d	3,62
Fungicida	0,80 a	0,80
CV (%)	6,93	3,75

Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha, não diferenciam entre si pelo teste de Scott-Knott (α 5%). BDA: Meio de cultura (Batata-dextrose-ágar); Fungicida: Rovral.

Quando comparada a atividade antifúngica dos extratos metanólicos em relação aos óleos essenciais pode-se observar que *G. platanifolia* possibilitaram uma maior inibição do crescimento micelial dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* e *Rhizopus* sp. em comparação aos seus extratos metanólicos. Entretanto, o extrato metanólico de *M. martiusii* foi mais eficaz que o seu óleo essencial quando testado sobre os fungos *Aspergillus niger* e *Cladosporium herbarum*, enquanto que estes fitopatógenos foram mais sensíveis aos óleos essenciais de *E. fruticosa* e *G. platanifolia*, que aos seus respectivos extratos (Tabela 2).

SATHISH et al. (2007) avaliaram a atividade antifúngica de diferentes extratos de 52 espécies vegetais de diferentes famílias, inclusive Lamiaceae, contra oito fungos do gênero *Aspergillus*. Os autores constataram que o *Aspergillus flavus* foi mais suscetível aos extratos aquoso, metanólico e etanólico que aos demais extratos para todas as espécies estudadas, exceto para a *Polyalthia longifolia* (Annonaceae). Estes resultados corroboram os obtidos nesse trabalho, em que o extrato metanólico de *M. martiusii* que promoveu um menor crescimento micelial para o fungo *A. niger*. Já Golçalves et al. (2009), avaliando o efeito de óleos essenciais de *Zingiber officinale* Roscoe e *Citrus latifolia* Tanaka e extratos hidroalcoólicos de *Pothomorphe umbellata* L. e *Alternanthera* sp. na sanidade e germinação de sementes de soja, observaram que todos os tratamentos testados apresentaram redução na incidência de *Cladosporium* sp., assim como as sementes tratadas com o óleo essencial de *Z. officinale*, que promoveu redução total da incidência dos patógenos *Rhizopus* sp. e *Fusarium* spp.

SCHWAN-ESTRADA et al. (2000) sugere que a atividade fungicida dos fitocompostos presentes em extratos vegetais de plantas pode estar relacionada as fitoalexinas, que são metabólitos secundários, antimicrobianos, de baixos pesos moleculares e produzidos pelas plantas em resposta ao estresse físico, químico ou biológico, capazes de reduzir a atividade de agentes patogênicos nos tecidos das plantas. De forma geral, o modo de ação das fitoalexinas inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas. Esses efeitos agem tanto na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo, como na redução ou inibição do crescimento micelial (LO et al., 1996). Já a atividade antifúngica dos óleos essenciais pode estar relacionada com sua hidrofobicidade, a qual permite que suas moléculas interajam com os lipídeos da membrana celular e da mitocôndria, podendo alterar a permeabilidade, acarretando distúrbios nestas estruturas. Assim como, componentes químicos presentes nos óleos essenciais podem ligar-se a íons e moléculas (hormônios) de outras células (COSTA et al. 2011). Silva et al. (2003) relatam que os antifúngicos naturais provocam danos à membrana

celular das células expostas a eles, deixando-as extremamente solúveis e com fraturas grosseiras que proporcionam a exposição do conteúdo celular, inclusive o núcleo.

Os resultados da análise de variância revelaram interação significativa entre os extratos metanólicos e óleos essenciais com as diferentes concentrações testadas, sendo observadas diferenças no crescimento micelial dos fitopatógenos *L. theobromae*, *Rhizopus* sp., *A. niger* e *C. herbarum* em virtude das concentrações dos extratos e dos óleos essenciais testados (Apêndice E).

A análise de regressão para os efeitos das doses dos extratos metanólicos de *E. fruticosa* e *M. martiusii* sobre o fungo *Lasiodiplodia theobromae* apresentaram efeito significativo, indicando um comportamento quadrático descendente, porém este fungo apresentou-se mais sensível ao extrato de *M. martiusii* indicando que na dose estimada de 1346,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ pode-se obter o menor crescimento micelial (3,81cm) (Figura 2A). Já o óleo essencial de *E. fruticosa* promoveu redução do crescimento micelial do fungo a partir da menor dosagem testada, estima-se que o menor diâmetro micelial desse fitopatógeno (8,71 cm) pode ser encontrado na concentração de 769,25 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figura 2E).

Por meio do modelo de regressão encontrado para os extratos, estima-se que concentrações superiores a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do extrato de *M. martiusii* seriam mais eficazes para o controle do fungo *Rhizopus* sp., podendo atingir diâmetro micelial de 2,29 cm quando utilizada a concentração estimada de 1907,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (Figura 2B). Já o óleo essencial de *E. fruticosa* promoveu redução do crescimento micelial do fungo a partir da menor dosagem testada, alcançando maior inibição do crescimento micelial (2,68 cm) na concentração estimada de 829,61 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

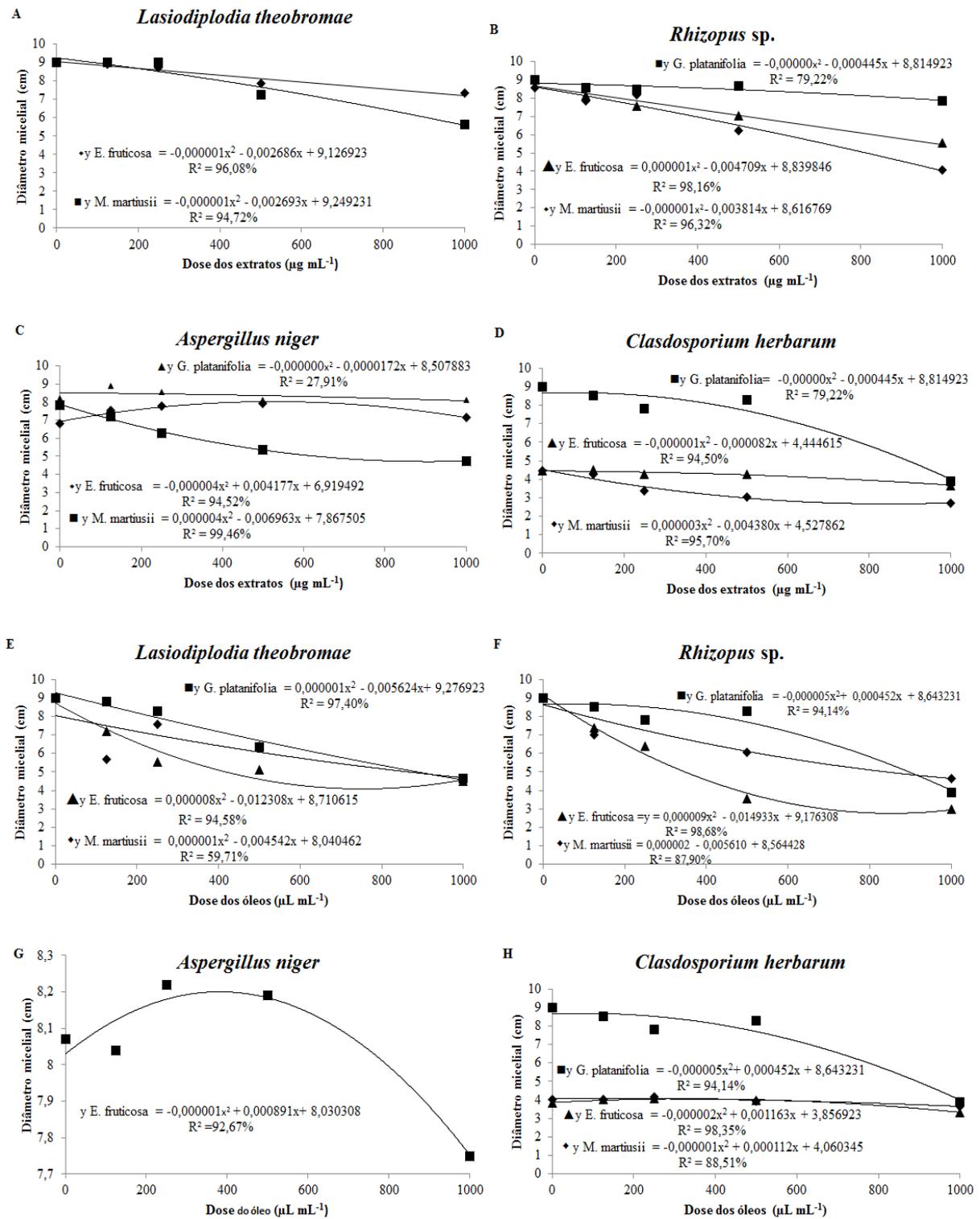


Figura 2. Inibição do crescimento micelial dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl, *Rhizopus sp.*, *Aspergillus niger* Van Tieghem e *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link submetidos a diferentes concentrações dos extratos metanólicos (A, B, C e D) e óleos essenciais (E, F, G e H) de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. Feira de Santana/BA, 2016.

Os resultados apontaram que o fungo *A. niger* foi mais suscetível ao extrato de *M. martiusii* que aos demais testados, sendo que na menor concentração foi possível observar inibição de seu crescimento micelial e de acordo com o modelo quadrático encontrado para as concentrações, estima-se que na concentração de 870,4 $\mu\text{g mL}^{-1}$ pode-se obter o menor crescimento do fungo (4,84 cm) (Figura 2C). Entretanto observa-se para óleo essencial da espécie *E. fruticosa* que a partir da concentração de 445,5 $\mu\text{L mL}^{-1}$ há um decréscimo do crescimento desse fitopatógeno (Figura 2G), notando menor crescimento micelial com o aumento das concentrações, verificando relação inversamente proporcional.

Verifica-se através da análise de regressão que o extrato metanólico de *M. martiusii* foi o mais efetivo contra o fitopatógeno *C. herbarum*. A partir do modelo quadrático encontrado pode-se inferir que o menor crescimento micelial do fungo (2,93 cm) pode ser obtido na concentração estimada de 730,5 $\mu\text{g mL}^{-1}$ desse extrato e que a partir dessa concentração observa-se uma tendência de estabilização do crescimento micelial (Figura 2D). Já em relação aos óleos essenciais, observa-se através do modelo quadrático comportamento similar das concentrações das espécies *E. fruticosa* e *M. martiusii*, porém pode-se obter um menor crescimento micelial deste fitopatógeno quando utilizada a concentração estimada de 290,75 $\mu\text{L mL}^{-1}$ de *E. fruticosa* com diâmetro micelial 4,03 cm, sendo capaz de promover maior inibição desse fungo (Figura 2H).

Lima et al. (2010) avaliaram o efeito de extratos vegetais de *Lippia microphylla* Cham. (alecrim do campo), *Myracrodruon urundeuva* Fr. Allem. (aroeira) e *Mimosa hostilis* Benth. (jurema preta), espécies nativas da Caatinga, sobre o crescimento do fungo *Lasiodiplodia theobromae*, obtendo 100, 46 e 30% de inibição, respectivamente, após três dias de avaliação. O óleo essencial de *M. arvensis* foi capaz de inibir o crescimento micelial dos fungos *Aspergillus* sp., *Penicillium rubrum* Stoll, *Sclerotinia* sp., *Fusarium moniliforme* (J. Sheld.) e *Corynespora cassiicola* (Berk. & M.A. Curtis) C.T. Wei na maior concentração utilizada (100 μL), entretanto, na menor concentração estudada 10 μL promoveu o crescimento de todos os fungos, exceto para o fungo *Sclerotinia* sp. (DINIZ et al., 2008).

Araujo et al. (2009), testaram extratos etanólicos e aquosos de alho (*Allium sativum* L.), canela (*Cinnamomum zeylanicum* L.), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr et L.M.Perry.), gengibre (*Zingiber officinale* R.), orégano (*Origanum vulgare* L.) e tomilho (*Thymus vulgaris* L.) sobre o crescimento micelial *Aspergillus ochraceus* K. Wilh., *Penicillium roqueforti* Thom e *Rhizopus stolonifer*, constatando que o extrato alcóolico puro de cravo e de canela apresentaram maior inibição micelial sobre os fungos *Penicillium roqueforti* e *Rhizopus stolonifer*. Já La Torre et al. (2015), em estudos realizados com óleos

essenciais das espécies *Eugenia caryophyllata* L. Merr. & Perry, *Thymus vulgaris* e *Rosmarinus officinalis* e seus respectivos compostos majoritários, sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum*, fitopatógeno do tomate, observaram que a melhor atividade antifúngica foi obtida com o óleo de *Thymus vulgaris* (inibição de 14,6%), seguida do óleo essencial de *Eugenia caryophyllata* (9,8%), assim como a diminuição do crescimento micelial foi proporcional ao aumento das concentrações.

Resultado similar ao encontrado para o extrato de *M. martiusii* sobre *A. niger* foi observado para o extrato aquoso de cravo-da-índia que apresentou redução no diâmetro da colônia do fitopatógeno *Colletotrichum* sp. logo a partir da menor concentração testada (VENTUROSO et al., 2011b). MARTINS et al. (2011) também avaliaram a atividade fungicida de extratos vegetais sobre o fungo fitopatogênico *Aspergillus niger*, constatando que o extrato aquoso de Salva do Marajó (*Hyptis crenata* Pohl ex Benth.) a 40% apresentou efeitos fungicidas *in vitro* sobre o crescimento desse fungo. Já Alves et al. (2012) avaliaram a atividade antifúngica dos óleos essenciais de *Hyptis suaveolens* e *Ocimum seloii* em diferentes concentrações contra *Alternaria alternata*, causadora da mancha marrom em tangerinas, observando que a concentração de 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$ foi capaz de promover maior inibição do fitopatógeno, para ambas as espécies.

Já Motoyama et al. (2003), avaliando o efeito fungitóxico de extrato cítrico, observaram nas menores concentrações (1 e 10 ppm) um estímulo no crescimento micelial de *F. semitectum*. Este resultado é similar ao encontrado para o extrato de *M. martiusii* contra o fungo *C. herbarum* em que se pôde observar que com o aumento das concentrações houve descréscimo do crescimento micelial. Menezes e Lima (2013) constataram que os óleos essenciais das espécies *Ocimum gratissimum* Blume, *Peumus boldus* Benth, *Origanum vulgare* L. e *Melissa officinalis* L., pertencentes a família Lamiaceae, apresentaram atividades antifúngicas sobre o crescimento micelial do fungo *Cladosporium carrionii*, com halos médios de inibição de 49,25 mm, 42,25 mm, 40,25 mm e 29 mm, respectivamente. Estes resultados são similares aos resultados apresentados para o óleo de *G. platanifolia* em que houve maior inibição do diâmetro micelial de *C. herbarum* utilizando a concentração de 290,75 $\mu\text{L L}^{-1}$.

CONCLUSÃO

Nas condições em que os bioensaios experimentais foram conduzidos pode-se concluir que os extratos metanólicos e óleos essenciais de *Eplingiella fruticosa*, *Gymneia platanifolia* e *Medusantha martiusii* apresentam ação antifúngica *in vitro* sobre fungos causadores de podridões pós-colheita da uva; O extrato metanólico de *Medusantha martiusii* apresenta maior eficácia no controle dos fitopatógenos *Lasiodiplodia theobromae*, *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* e *Cladosporium herbarum*, que os demais extratos; O óleo essencial da espécie *Eplingiella fruticosa* proporciona maior controle sobre o crescimento micelial de todos fitopatógenos estudados; Estudos posteriores são necessários, buscando o fracionamento desses extratos, identificação dos compostos químicos mais efetivos, desenvolvimento de formulações com extratos e óleos e realização de testes *in vivo*.

AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Bahia (FAPESB) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro à realização do projeto. A Embrapa Semiárido pela colaboração nas análises de atividade antimicrobiana.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R. P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. Carol Stream, Illinois-USA: **Allured Publishing Corporation**©, 4. ed, 2007. 804p.
- AFONSO, M. S.; SANT'ANA, L. S.; MANCINI-FILHO, J. Interação entre antioxidantes naturais e espécies reativas de oxigênio nas doenças cardiovasculares: perspectivas para a contribuição do alecrim (*Rosmarinus officinalis*L.). **Nutrire**, v.35, n. 1, p.129-148, 2010.
- ALARCON-AGUILAR. et al. Investigation on the hypoglycemic effects of extracts of four Mexican medicinal plants in normal and alloxan-diabetic mice. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 4, p. 383-386. 2002.
- AL-RAHMAH, A. N. et al. Fungicidal activities of certain methanolic plant extracts against tomato phytopathogenic fungi. **African Journal of Microbiology Research**, v.7, n.6, p.517–524, 2013.
- ALVES, E.; FERNANDES, R. S.; PERINA, F. J. Concentração inibitória mínima dos óleos essenciais de *Hyptis suaveolens* E *Ocimum seloii* a *Alternaria alternata*. In: 45° Congresso Brasileiro de Fitopatologia, 2012, Manaus, **Anais...** Manaus, Tropical Plant Pathology 38 (Suplemento), agosto 2012.
- ARAUJO, R. C. Z. et al. Avaliação in vitro da atividade antifúngica de extratos de condimentos na inibição de fungos isolados de pães artesanais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 33, n. 2, p. 545-551, 2009.
- ARTÉS-HERNÁNDEZ, F.; TOMÁS-BARBERAN, F. A. Modified atmosphere packaging preserves quality of SO₂-free 'Superior seedless' table grapes. **Postharvest Biology and technology**, v. 39, p.146-154, 2006.
- BENELLI, G; FLAMINI, G.; CANALE, A.; MOLFETTA, I; CIONI, P. L.; CONTI, B. Repellence of *Hyptis suaveolens* whole essential oil and major constituents against adults of the granary weevil *Sitophilus granarius*. **Bulletin of Insectology**, v.65, n.2, p.177-183, 2012.
- BENINI, P. C. et al. Efeito in vitro do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum gratissimum* colhido nas quatro estações do ano sobre fitopatógenos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 77, n. 4, p. 677-683, 2010.
- CALDAS, G. F. R. et al. Antiulcerogenic activity of the essential oil of *Hyptis martiusii* Benth. (Lamiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.137, p.886– 892, 2011.
- CAVALCANTI, L. S.; DI PIERO, R. M., CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; RESENDE, M. L. V.; ROMEIRO, R. S. (Ed.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ. 2005, 263 p.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutos e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. e ampl. Lavras: UFLA. 2005.

- COSTA, J. G. M. et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzygium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p.304–309, 2005.
- COSTA, A.R.T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.2, 2011.
- 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.
- DI STASI, L.C. Química de produtos naturais: principais constituintes ativos. In: Di Stasi, L.C. (Ed.). **Plantas medicinais: arte e ciência. Um guia de estudos multidisciplinar**. São Paulo: Universidade Paulista, 1996. p.109-127.
- DINIZ, S. P. S. S. et al. Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.4, p.9-11, 2008.
- FERNANDES, E. S. et al. Anti-inflammatory effects of compounds alpha-humulene and (-)-trans-caryophyllene isolated from the essential oil of *Cordia verbenacea*. **European Journal of Pharmacology**, v. 569, n.3, p.228-236, 2007.
- FERNANDES, L. C. B. Fungitoxidade dos extratos vegetais e do óleo essencial de *Lippia gracilllis* Schauer sobre o fungo *Monosporascus cannonballus* Pollack e Uecker. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 2, p. 153-155, 2015.
- GONÇALVES, G. G.; MATTOS, L. P. V.; MORAIS, L. A. S. Óleos essenciais e extratos vegetais no controle de fitopatogênicos de grãos de soja. **Horticultura Brasileira**, v.27, p.102-107, 2009.
- HUSSAIN, A. I. et al. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oils depends on seasonal variations. **Food Chemistry**, v. 108, n.3, p. 986-995, 2008.
- IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Informações sobre culturas permanentes**. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: 20 dez. 2015.
- LA TORRE, A. et al. Using plant essential oils to control *Fusarium* wilt in tomato plants. **European Journal of Plant Pathology**, 2015.
- LI, R. et al. Biocontrol of postharvest gray and blue mold decay of apples with *Rhodotorula mucilaginosa* and possible mechanisms of action. **International Journal of Food Microbiology**, v.146, p.151-156, 2011.
- LIMA, J. S. et al. Ação fungitóxica de extratos vegetais de plantas da caatinga sobre o crescimento micelial de *Lasioidiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. em *Vitis vinifera* L. In: CONGRESSO NORTE-NORDESTE DE PESQUISA E INOVAÇÃO, 2010, Maceió. **Anais...** Maceió: CONNEPI, 2010. p.23-26.

- LO, L. C. et al. Fitoalaxin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.49, p.21-31, 1996.
- LYON, G.D.; REGLINSKI, T.; NEWTON, A.C. Novel disease control compounds: the potential to “immunize” plants against infection. **Plant Pathology**, v.44, p.407-427, 1995.
- MAHESH, B.; SATISH, S. Antimicrobial activity of some importante medicinal plant against plant and human pathogens. **World Journal of Agricultural Sciences**, v.4, p.839-843, 2008.
- MARTINS, S. A. G. et al. Utilização de extrato vegetal aquoso *in vitro* de salva do marajó (*Hyptis crenata*) em sementes de pepino (*Cucumis sativus* L.). In: 9º Seminário Anual de Iniciação Científica, 2011, Belém, **Anais...** Belém: 9º Seminário Anual de Iniciação Científica, 2011.
- MENEZES, I. A. C. et al. Antinociceptive effect and acute toxicity of the essential oil of *Hyptis fruticosa* Salzm. ex Benth. in mice. **Fitoterapia**, v.78, p.192-195, 2007.
- MENEZES, C. P.; LIMA, E. O. Atividade antifúngica de óleos essenciais sobre cepas de *Cladosporium carrionii*. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.94, v.1, p.49-53, 2013.
- 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 Agronomy**, v.25, p.491-496, 2003.
- OLIVEIRA, S. M. A. et al. **Patologia pós colheita: frutas, olerícolas e ornamentais tropicais**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 2006, 855 p.
- PEARSON, R. C.; GOHEEN, A. C. **Compendium of grape diseases**. 1994.
- PERES, F., MOREIRA, J. C. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ; 2003.
- POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes. 2003, p.109-294.
- POMMER, C. V.; MAIA, M. L. Introdução, história, importância, custos. In: POMMER, C. V. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003, p. 11-35.
- RAHMAN, A.; HOSSAIN, M. A.; KANG, S. C. Control of phytopathogenic fungi by the essential oil and methanolic extracts of *Erigeron ramosus* (Walt.) B.S.P. **European Journal of Plant Pathology**, v.128, p.211-219, 2010.
- RODRIGUES, E. et al. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto *in vitro* e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Acta Scientiarum**, v.28, n.1, p.123-127, 2006.
- SATISH, S. et al. Antifungal activity of some plant extracts against important seed borne pathogens of *Aspergillus* sp. **Journal of Agricultural Technology**, v.3, n.1, p.109-119, 2007.

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

SCHWAN, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28 (suplemento), p. 554-556, 2003.

SILVA, S.R.S. et al. Análise de constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, p.63-70, 2003.

SILVA, W. J. et al. Effects of essential oils on *Aedes aegypti* larvae: Alternatives to environmentally safe insecticides. **Bioresource Technology**, v.99, p.3251-3255, 2008.

SOUZA, L. K. H. et al. Antifungal properties of brazilian cerrado plants. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.33, p.247-249, 2002.

VEIGA-JUNIOR V. F.; MELLO, J. C. P. As monografias sobre plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p.464-471, 2008.

VENTUROSOSO, L. R. et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011a.

VENTUROSOSO, L. R. et al. Inibição do crescimento *in vitro* de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.78, n. 1, p.89-95, 2011b.

CONSIDERAÇÕES FINAS

Os extratos metanólicos e o óleos essenciais das espécies *E. fruticosa*, *G. platanifolia* e *M. martiusii* mostram-se promissores para o controle da *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* e *Ralstonia solanacearum*. Destacando-se os extratos metanólicos das espécies estudadas, os quais revelaram maior atividade antibacteriana em comparação aos óleos essenciais.

Os extratos metanólicos e óleos essenciais de *E. fruticosa*, *G. platanifolia* e *M. martiusii* apresentam ação antifúngica *in vitro* sobre fungos causadores de podridões pós-colheita da uva *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Lasiodiplodia theobromae* e *Rhizopus* sp. Ressaltando-se o óleo essencial de *Eplingiella fruticosa* que obteve maior eficácia para o controle da maioria dos fungos testados.

Entretando são necessários estudos posteriores, como testes *in vivo*, fracionamento dos extratos, bem como, isolar e identificar os compostos químicos mais efetivos, como também o desenvolvimento de formulações.

APÊNDICES

APÊNDICE A: Análise da composição química dos óleos essenciais obtidos de folhas de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (EF), *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (GP) e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore (MM). Feira de Santana/BA, 2016.

Compostos	IK _{lit}	IK _{calc}	EF (%)	MM (%)	GP (%)
α -tujeno	930	927	t	t	-
α -pineno	939	935-36	1,47 \pm 0,40	1,1 \pm 0,44	-
canfeno	954	951	0,77 \pm 0,38	0,23 \pm 0,06	-
sabineno	975	974	t	-	-
β -pineno	977	978-80	1,20 \pm 0,26	0,23 \pm 0,06	-
β -mirceno	990	989-91	t	3,8 \pm 0,61	-
p-mentha-1(7),8-dieno	1004	1003-06	t	0,23 \pm 0,06	-
δ -3-careno	1011	1013	-	5,17 \pm 0,74	-
α -terpineno		1019	-	0,27 \pm 0,12	-
p-cimeno	1024-26	1024-27	0,30 \pm 0	3,33 \pm 0,23	-
limoneno	1029	1030-32	2,77 \pm 0,50	3,33 \pm 0,32	-
1,8-cineol	1031	1032-35	5,93 \pm 0,75	7,40 \pm 0,66	-
γ -terpineno	1059	1059-62	t	2,00 \pm 0,20	-
fenchona	1086	1087	t	-	-
p-mentha-2,4(8)-dieno	1088	1088	-	0,3 \pm 0	-
terpinoleno	1088	1090	-	0,2 \pm 0	-
linalol	1096	1096	0,30 \pm 0	-	-
trans-pinocarveol	1139	1139	t	-	-
cânfora	1146	1144-47	3,43 \pm 0,68	2,8 \pm 0,26	-
borneol	1169	1166-68	2,27 \pm 0,40	0,2 \pm 0	-
terpinen-4-ol	1177	1177-79	0,30 \pm 0	0,2 \pm 0	-
p-metilacetofenona	1182	1184	-	-	0,63 \pm 0,12
α -terpineol	1188	1189-91	0,30 \pm 0,10	0,2 \pm 0	-
mirtenol	1195	1194	t	-	-
timol	1290	1294	-	t	-
carvacrol	1299	1300	-	t	-
δ -elemeno	1338	1340	t	-	-
α -cubebeno	1348	1351-56	1,90 \pm 0,17	-	0,93 \pm 0,06
α -ylangeno	1375	1375	-	-	3,10 \pm 0,20
isoleveno	1376	1377	-	t	-
α -copaeno	1376-77	1377-82	3,40 \pm 0,36	t	t
dauceno	1381	1391	-	-	t
β -bourboneno	1388	1386-96	0,43 \pm 0,06	-	0,67 \pm 0,12
β -cubebeno	1388	1390	0,97 \pm 0,15	-	-
β -elemeno	1388	1392	0,50 \pm 0	-	-
α -gurgujeno	1409	1412-14	t	0,23 \pm 0,06	-
β -cubebeno+ β -	1388/1390	1396	-	-	1,10 \pm 0,06

elemeno					
cypereno	1398	1406	-	-	0,70±0
α-santaleno	1417	1417	-	-	t
E-cariofileno	1419	1421-26	8,67±0,70	9,83±0,06	0,50±0
α-bergamoteno	1434	1442	-	-	0,70±0
aromadendreno	1441	1441-47	0,30±0	3,00±0,17	-
trans-muuro-la-3,5- dieno	1453	1452	0,90±0,44	-	-
α-humuleno	1454	1456-60	1,53±0,21	14,9±0,36	0,70±0
γ-muuro-leno	1479	1477	0,47±0,06	-	-
germacreno D	1485	1482-86	4,50±0,26	0,37±0,06	0,83±0,12
γ-amorfeno	1495	1499	-	-	1,00±0
biciclogermacreno	1496-1500	1497-1501	6,40±2,41	3,07±0,49	-
α-muuro-leno	1500	1505	-	-	1,23±0,06
β-bisaboleno	1505	1511	-	-	2,10±0,10
γ-cadineno	1513-23	1513-20	1,67±0,06	0,20±0	-
trans-calameno	1522-29	1524-27	4,53±0,06	0,40±0	-
7-epi-α- selineno+δ- cadineno	1522/1523	1524	-	-	3,87±0,29
cis-calameneno	1529	1529	-	-	1,17±0,12
trans-cadina-1,4- dieno	1534	1533	0,90±0,26	-	-
epi-longipinanol	1563	1564	-	15,03±1,08	-
espatulenol	1578-83	1579-86	9,23±1,52	0,33±0,06	27,93±0,71
óxido de cariofileno	1583	1584-87	12,63±1,29	2,63±0,40	10,23±0,29
viridiflorol	1592	1593	1,73±0,12	-	-
rosifoliol	1600	1606	-	1,47±0,06	-
1,10-di-epi- cubenol	1620	1619	t	-	-
epi-α-cadinol	1640	1643	2,23±0,35	-	-
epóxido de allo- aromadendreno	1641	1641	-	0,83±0,12	-
α-muuro-lol	1646	1648	-	-	5,57±0,47
α-eudesmol	1653	1655	-	0,87±0,06	-
α-cadinol	1654	1655	1,33±0,42	-	4,73±1,12
selin-11-en-4-α-ol	1659	1659	-	1,47±0,15	-
alohimachalol	1662	1662	-	2,57±0,23	-
eudesm-7(11)-en- 4-ol	1696	1696	0,40±0	-	-
epi-Z-santalol	1702	1706	-	0,90±0,10	-
Monoterpenos			44,19±0,00	51,28±0,00	4,54±0,00
Sesquiterpenos			55,81±0,00	48,72±0,00	95,45±0,00
Total de compostos identificados			82,93±1,11	89,1±0,95	67,37±2,89

*KI_{lit}= índice de Kovats da literatura; IK_{calc} = índice de Kovats calculado; (t): traços do composto.

APÊNDICE B: Resumo da análise de variância para a variável halo de inibição do crescimento bacteriano de *Ralstonia solanacearum* (Smith) e *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye submetidas a diferentes concentrações do extrato metanólico (EM) e óleo essencial (OE) de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. UEFS, Feira de Santana/BA, 2016.

<i>Ralstonia solanacearum</i>			
FV	GL	Quadrados médios	
		EM	OE
Tratamento	5	203,562952**	228,954595**
Concentração	5	197,847622**	232,601887**
T x C	4	-2.38673363E+0002 _{ns}	-2.67307827E+0002 _{ns}
Erro	135	2,340904	0,131560
CV (%)		22,74	30,15
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i>			
FV	GL	Quadrados médios	
		EM	OE
Espécie (E)	4	75,126059 **	25,745355 **
Concentração (c)	5	90,193009 **	23,053099 **
E x c	6	-5.86227191E+0001 _{ns}	16,335211**
Erro	154	4,981358	2,707524
CV (%)		28,54	32,34

** Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott; ns: Não significativo;). EM: Extrato metanólico; OE: óleo essencial. Os dados foram transformados pela equação Raiz quadrada de $Y + 1.0 - \sqrt{Y + 1.0}$.

APÊNDICE C: Resumo da análise de regressão para a variável halo de inibição do crescimento bacteriano de *Ralstonia solanacearum* (Smith) e *Xanthomonas campestris* pv. *viticola* (Naydu) Dye submetidos a diferentes concentrações do extrato metanólico (EM) e óleo essencial (OE) de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. UEFS, Feira de Santana/BA, 2016.

<i>Ralstonia solanacearum</i>			
FV	GL	Quadrados médios	
		EM	OE
<i>E. fruticosa</i> (c)	4	4,719752**	3,057500 _{ns}
<i>G. platanifolia</i> (c)	4	8,706528 _{ns}	2,838750**
<i>M. martiusii</i> (c)	4	16,108012**	1,072931**
<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>viticola</i>			
FV	GL	Quadrados médios	
		EM	OE
<i>E. fruticosa</i> (c)	4	40,898943**	9,789735**
<i>G. platanifolia</i> (c)	4	53,483040**	49,542023**
<i>M. martiusii</i> (c)	4	47,705338**	0,374628 _{ns}

APÊNDICE D: Resumo da análise de variância do crescimento micelial dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* Van Tieghem e *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link submetidos a diferentes concentrações do extrato metanólico (EM) e óleo essencial (OE) de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. UEFS, Feira de Santana/BA, 2016.

<i>Lasiodiplodia theobromae</i>			
		Quadrados médios	
FV	GL	EM	OE
Espécie	4	78,604718**	58,422841**
Concentração	4	17,447201**	53,725191**
E x C	7	-1.9324577E+0000 _{ns}	-2.6700521E+0000 _{ns}
Erro	69	0,025145	0,129986
CV (%)		1,98	5,52
<i>Rhizopus</i> sp.			
		Quadrados médios	
FV	GL	EM	OE
Espécie	4	71,478168**	25,572194**
Concentração	4	30,201930**	62,789621**
E x C	7	-2.0567029E+0000 _{ns}	2.573110**
Erro	69	0,057058	0,041926
CV (%)		3,27	3,05
<i>Aspergillus niger</i>			
		Quadrados médios	
FV	GL	EM	OE
Espécie	4	17,410267**	7,230247**
Concentração	4	3,638208**	1,057904**
E x C	7	3,188320**	-4.4173863E-0001 _{ns}
Erro	69	0,250984	0,073891
CV (%)		6,89	3,53
<i>Cladosporium herbarum</i>			
		Quadrados médios	
FV	GL	EM	OE
Espécie	4	13,072597**	12,463368**
Concentração	4	3,422764**	1,426452**
E x C	7	0,497473**	-4.3970311E-0001 _{ns}
Erro	69	0,072200	0,016498
CV (%)		7,15	3,72

** Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott; ns: Não significativo. EM: Extrato metanólico; OE: óleo essencial.

APÊNDICE E: Resumo da análise de regressão do crescimento micelial dos fungos *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl., *Rhizopus* sp., *Aspergillus niger* Van Tieghem e *Cladosporium herbarum* (Pers.:Fr.) Link submetidos a diferentes concentrações do extrato metanólico (EM) e óleo essencial (OE) de *Eplingiella fruticosa* (Salzm. Ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore, *Gymneia platanifolia* (Mart. ex Benth.) Harley & J.F.B.Pastore e *Medusantha martiusii* (Benth.) Harley & J.F.B.Pastore. UEFS, Feira de Santana/BA, 2016.

<i>Lasiodiplodia theobromae</i>			
FV	GL	Quadrados médios	
		EM	OE
<i>E. fruticosa</i> (c)	4	2,711650**	16,776650**
<i>G. platanifolia</i> (c)	4	0,00000000E+0000 _{ns}	17,709600**
<i>M. martiusii</i> (c)	4	11,353750**	14,566350**
CV (%)		1,98	5,52
<i>Rhizopus</i> sp.			
FV	GL	Quadrados médios	
		EM	OE
<i>E. fruticosa</i> (c)	4	8,373100**	33,023600**
<i>G. platanifolia</i> (c)	4	0,908600**	20,745850**
<i>M. martiusii</i> (c)	4	17,321000**	13,519670**
CV (%)		3,27	3,05
<i>Aspergillus niger</i>			
FV	GL	Quadrados médios	
		EM	OE
<i>E. fruticosa</i> (c)	4	1,029314**	0,083350 _{ns}
<i>G. platanifolia</i> (c)	4	0,594022**	0,051381 _{ns}
<i>E. fruticosa</i> (c)	4	8,016803**	0,173650**
CV (%)		6,89	3,53
<i>Cladosporium herbarum</i>			
FV	GL	Quadrados médios	
		EM	OE
<i>E. fruticosa</i> (c)	4	0,543850**	0,454850**
<i>G. platanifolia</i> (c)	4	0,993975**	0,041900**
<i>M. martiusii</i> (c)	4	2,854352**	0,179950**
CV (%)		7,15	3,72

** Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Scott-Knott; ns: Não significativo; EM: Extrato metanólico; OE: óleo essencial.