

**KÉZIA FERREIRA ALVES**

**CONTROLE ALTERNATIVO DA ANTRACNOSE DO PIMENTÃO  
COM EXTRATOS VEGETAIS**

**RECIFE -PE  
FEVEREIRO – 2008**

**KÉZIA FERREIRA ALVES**

**CONTROLE ALTERNATIVO DA ANTRACNOSE DO PIMENTÃO  
COM EXTRATOS VEGETAIS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Fitopatologia.

**RECIFE - PE  
FEVEREIRO – 2008**

**CONTROLE ALTERNATIVO DA ANTRACNOSE DO PIMENTÃO  
COM EXTRATOS VEGETAIS**

**KÉZIA FERREIRA ALVES**

**COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:**

**Prof. Dr. Delson Laranjeira (UFRPE) – Orientador**

**Prof. Dr. Sami Jorge Michereff (UFRPE) – Co-orientador**

**Prof. Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara (UFRPE) – Co-orientador**

**RECIFE – PE  
FEVEREIRO – 2008**

**CONTROLE ALTERNATIVO DA ANTRACNOSE DO PIMENTÃO  
COM EXTRATOS VEGETAIS**

**KÉZIA FERREIRA ALVES**

Dissertação defendida e aprovada pela Banca Examinadora em: 28/02/2008

**ORIENTADOR:**

---

Prof. Dr. Delson Laranjeira (UFRPE)

**EXAMINADORES:**

---

Profa. Dra. Elineide Barbosa da Silveira (UFRPE)

---

Prof. Dr. Péricles de Albuquerque Melo Filho (UFRPE)

---

Profa. Dra. Norma Suely Sobral da Silveira (UFRPE)

**RECIFE – PE  
FEVEREIRO – 2008**

## DEDICATÓRIA

Ao Senhor Deus que está comigo todos os dias “...*mas os que esperam no Senhor renovam as suas forças, sobem com asas como águias, correm e não se cansam, caminham e não se fatigam*” (Is. 40:31)

Aos meus pais Luiz e Eny Alves pelo seu amor incondicional, dedicação e incentivo em concluir mais uma etapa de minha vida.

Aos meus irmãos Eder Daniel e Kédma pela alegria de estarem ao meu lado em qualquer circunstância.

Aos meus tios, tias, primos e avó Terezita Alves pelo carinho e apoio.

Ao meu avô Durval Alves (*in memoriam*) pelo grande exemplo que deixou na Família

Alves

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), por possibilitarem a realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Delson Laranjeira pela orientação e ensinamentos.

Ao professor Dr. Sami Jorge Michereff pela co-orientação, profissionalismo e amizade durante a execução deste trabalho.

Aos professores Dr. Marcos Paz Saraiva Câmara, Dr. Cláudio Augusto Gomes da Câmara, pela colaboração.

Aos demais professores do programa de Pós-Graduação em Fitopatologia pelos conhecimentos transmitidos durante o mestrado.

Aos colegas e amigos Cícero, Jean, Litervaldo, Kátia, Marcelo, Nina, Robson, Rosana, Sarah e Valéria, pelos momentos de descontração durante o curso.

Ao amigo Eddy Barazza pela colaboração profissional e amizade.

Aos amigos Alicely, Juliana Carnaúba, Priscilla Moreira e Márcio Félix, pela amizade e companheirismo incondicional formada durante o curso.

À amiga eterna Mariana Silveira pelo apoio em todos os momentos.

Aos meus líderes Rev. Marcos Monteiro e Elisabeth Monteiro pela compreensão e ajuda nos momentos difíceis.

A minha querida anfitriã Elisabeth Casimiro, que me acolheu de forma especial.

Aos meus amigos mais chegados que um irmão Alessandra, Aninha, Beto, Daniel, Débora, Michelle, Edinete e Wamilson.

Aos estagiários do Laboratório de Epidemiologia Ana, Mércia, Thárcio e Vanessa, pela colaboração e ajuda nos experimentos.

Aos funcionários da Área de Fitossanidade Adriana, Adelmo, Darci e Romildo, pelo estímulo e amizade.

Enfim, à todos que contribuíram com uma palavra de apoio, meus sinceros agradecimentos.

## SUMÁRIO

	Página
DEDICATÓRIA.....	v
AGRADECIMENTOS.....	vi
SUMÁRIO.....	vii
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	ix
CAPÍTULO I – Introdução Geral.....	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24
CAPÍTULO II – Eficiência de extratos vegetais brutos no controle da antracnose em frutos de pimentão .....	34
ABSTRACT .....	35
INTRODUÇÃO .....	35
MATERIAIS E MÉTODOS .....	36
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	38
RESUMO .....	40
REFERÊNCIAS .....	40
CONCLUSÃO GERAL .....	46

## RESUMO

A antracnose é considerada uma importante doença do pimentão (*Capsicum annuum* L.) no Estado de Pernambuco e em várias partes do mundo, causando perdas significativas à produção de frutos para comercialização. Ações voltadas para medidas preventivas como o controle alternativo, são de grande relevância por meio da exploração de compostos secundários presentes em plantas medicinais com atividade antimicrobiana. O presente trabalho teve por objetivo, avaliar a eficiência de extratos vegetais brutos no controle da antracnose em pimentão, bem como analisar a estabilidade do controle dos tratamentos promissores em relação a diferentes concentrações dos extratos, concentrações do inoculo e isolados do patógeno e, temperaturas. Na seleção preliminar foram utilizadas 16 espécies vegetais para obtenção de extratos aquosos e etanólicos. Os extratos aquosos de alho (*Allium sativum* L.), malva (*Malva* sp.) e gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe.) propiciaram reduções superiores a 97% nos níveis de severidade. O maior valor de CL<sub>75</sub> foi constatado para o extrato de alho (3,5%), enquanto o menor valor de CL<sub>75</sub> foi verificado com a aplicação de extrato de gengibre (2,1%). A menor taxa de redução da eficiência do controle (TRE) da antracnose com o incremento do inóculo do patógeno ocorreu no extrato de alho. Com relação a diferentes isolados de *C. gloeosporioides*, foi constatada interação significativa entre os tipos de extratos e os isolados do patógeno. Os extratos vegetais foram eficientes no controle da doença nas temperaturas de 20, 25 e 30 °C, enquanto nas temperaturas 10, 15 e 35 °C não houve doença. Não houve diferenças nas eficiências dos extratos de alho e gengibre, enquanto o extrato de malva apresentou a menor eficiência a 20 °C, diferindo das outras temperaturas, bem como dos demais extratos nessa temperatura. Os resultados obtidos nesse estudo indicam o grande potencial de utilização do extrato de alho a 6% no controle da antracnose em pimentão, considerando sua estabilidade em diferentes situações.

Palavras-chave: *Capsicum annuum*, *Allium sativum*, *Malva* sp., *Zingiber officinale*, *Colletotrichum gloeosporioides*



## ABSTRACT

Anthracnose is considered an important disease of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) in the state of Pernambuco and in various parts of the world, causing significant losses for fruit commercialization. Actions directed to preventive measures such as alternative control, are of great importance through the exploration of secondary compounds present in medicinal plants with antimicrobial activity. This study aimed to, assess the efficiency of crude extracts in the control of anthracnose in bell pepper, and analyze the control stability of promising treatments in relation to different extract, inoculum, temperature and pathogen isolates concentrations. In preliminary selection, 16 plant species were used in order to obtain aqueous and hidroalcoólico extracts. The aqueous extracts of garlic (*Allium sativum* L.), Mallow (*Malva* sp.), and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe.) showed greater than 97% reductions in disease severity levels. The greatest value of CL75 was found for the garlic extract (3.5%), while the lowest value of CL75 was verified with the application of the ginger extract (2.1%). The lowest rate of efficiency reduction of the anthracnose control (TRE) with the pathogen inoculum increase occurred with garlic extract. With regard to different *C. gloeosporioides* isolates, significant interaction was found between the different extracts and isolates of the pathogen. The plant extracts were effective in controlling the disease in temperatures of 20, 25 and 30 ° C, while temperatures in the 10, 15 and 35 ° C there was no disease. There were no differences in the efficiencies of garlic and ginger extracts, while the extract of hollyhock had the lower efficiency at 20 ° C, differing from the other temperatures, and other extracts at this temperature. The results obtained in this study indicate the great potential for use of the garlic extract (6%) in anthracnose control of bell pepper, considering its stability in different situations.

Key words: *Capsicum annuum*, *Allium sativum*, *Malva* sp., *Zingiber officinale*, *Colletotrichum gloeosporioides*.

# Capítulo I

---

---

## Introdução Geral

## INTRODUÇÃO GERAL

O gênero *Capsicum* L. pertence à família Solanaceae e inclui tanto pimentas doces como quentes. Este gênero inclui 27 espécies, sendo cinco domesticadas, cultivadas em diferentes partes do mundo - *C. annuum* L., *C. chinense* Jacq., *C. frutescens* L., *C. baccatum* L. e *C. pubescens* Ruiz & Pav. - e 22 espécies selvagens, distribuídas ao redor do seu centro de origem (DE WITT; BOSLAND, 1993; BOSLAND; VOTAVA, 1999). A maioria das pimentas cultivadas comercialmente é *C. annuum* e inclui as pimentas malagueta mexicana, pimenta quente da África e Ásia, além de diversas cultivares de pimenta doce (pimentão), que estão em expansão em regiões temperadas da Europa e América do Norte (PICKERSGILL, 1997).

O continente americano é o centro de origem do gênero *Capsicum*, enquanto os centros de diversidade podem variar conforme a espécie. O centro de diversidade de *C. annuum* var. *annuum* inclui o México e a América Central, o de *C. frutescens* inclui as terras baixas do sudeste brasileiro até a América Central e as Antilhas (Índias Ocidentais), no Caribe, o de *C. baccatum* var. *pendulum* inclui a Bolívia, onde ocorre a maior diversidade, e o sudeste brasileiro, enquanto o de *C. chinense*, a mais brasileira das espécies domesticadas, é a Bacia Amazônica (DE WITT; BOSLAND, 1993).

O Brasil possui ampla diversidade de espécies de *Capsicum*, com destaque para *C. annuum* var. *annuum*; *C. baccatum* var. *pendulum*; *C. chinense* e *C. frutescens* (REIFSCHNEIDER, 2000). Contudo, o cultivo é baseado em *C. annuum*, que apresenta maior variabilidade em decorrência da troca de genes entre plantas da mesma espécie ou entre espécies diferentes desse gênero, através da polinização cruzada, pela ação do vento, insetos polinizadores ou até mesmo pela ação do homem, resultando numa grande variabilidade genética e numa diversificação enorme de variedades (CASALI; PÁDUA; BRAZ, 1984).

O pimentão (*C. annuum*) é uma das mais importantes hortaliças cultivadas, sendo seus frutos consumidos no ponto de maturação comercial, além de utilizados na indústria alimentícia para produção de pigmentos (REIFSCHNEIDER; RIBEIRO, 2004).

A China e a Índia têm mais de 1.000.000 ha cultivados com *Capsicum*, especialmente a pimenta malagueta, usada como condimento. Em outros países

asiáticos, como na Coréia, é uma importante cultura, onde a produção anual tem sido estimada em 1,4 bilhões de dólares (KIM; PARK, 1988; SHIN et al., 1999).

A maioria dos estados brasileiros produz pimentão, sendo estimado que 13.000 ha sejam cultivados, alcançando produção de 280.000 ton de frutos para o processamento de molhos, conservas e outras formas de preparo, responsáveis por um mercado de 3 milhões de dólares ao ano (CARVALHO; BIANCHETTI; HENZ, 2003). A maior produção está concentrada nos Estados de São Paulo e Minas Gerais, responsáveis pelo plantio de 5.000 ha. e produção de 120.000 ton de frutos (REIFSCHNEIDER; RIBEIRO, 2004). A produtividade média da cultura é de 40 a 60 t/ha enquanto que a produtividade em cultivo protegido chega a 180 t/ha (FILGUEIRA, 2000).

No Estado de Pernambuco, os municípios de Camocim de São Félix, Gravatá, João Alfredo, Chã Grande e São Joaquim do Monte são os principais fornecedores de pimentão à Central de Abastecimentos (CEASA-PE) de Recife (CEASA-PE, 2008). Inexistem informações sobre a quantidade de pimentão comercializada na CEASA-PE, mas na Central de Abastecimentos de São Paulo (CEAGESP) foram comercializadas 38.089 ton em 2005 e 22.980 ton até o mês de julho de 2006 (FNP, 2007).

A pimenteira é uma planta exigente em calor, sensível a baixas temperaturas e intolerante a geadas, por isso deve ser cultivada preferencialmente nos meses de alta temperatura, condição que favorece a germinação, o desenvolvimento e a frutificação, obtendo-se assim, um produto de alto valor comercial com menor custo de produção (FILGUEIRA, 2000). As temperaturas médias mensais ideais situam-se entre 21°C e 30°C, sendo que a média das mínimas ideal é 18°C e das máximas em torno de 35°C. Temperaturas acima de 35°C prejudicam a formação dos frutos e baixas temperaturas inviabilizam a produção, provocando a queda de flores e frutos, além de influenciar negativamente no vigor e coloração dos frutos, redução do valor comercial, estiolamento de folhas maduras, murcha de partes jovens e crescimento lento. Estes fatos são facilmente verificados quando se comparam plantios sob proteção plástica e em campo aberto. Na região Nordeste, o plantio na estação chuvosa deve ser evitado por dificultar o preparo do solo, tratos culturais e o controle fitossanitário (REIFSCHNEIDER, 2000).

O ciclo da cultura e o período de colheita são afetados diretamente pelas condições climáticas e pelos tratos culturais como adubação e irrigação, incidência de pragas e doenças, e adoção de medidas de controle fitossanitário. De uma maneira geral,

as primeiras colheitas são feitas a partir de 90 dias após a semeadura para as cultivares mais precoces, e após 120 dias para as mais tardias. O ponto de colheita ideal é determinado visualmente, quando os frutos atingem o tamanho máximo de crescimento e o formato típico de cada espécie, com a cor específica demandada pelo mercado (CORREIA, 1984).

Novas técnicas de produção vêm sendo aplicadas no cultivo de pimentão no Brasil, como a substituição de cultivares por híbridos aumentando sua produtividade. Apesar dos cuidados e da inclusão de novas tecnologias ao sistema de produção, várias pragas e doenças são extremamente limitantes à produção e causam perdas significativas à cultura. A antracnose é uma doença comum do pimentão no Brasil, pois apresenta ocorrência generalizada, especialmente quando o período de cultivo coincide com chuvas e a incidência de clima quente e úmido. Nestas circunstâncias, a antracnose é altamente destrutiva e causa perdas de até 100% na produção de frutos (AZEVEDO et al., 2005; 2006).

A antracnose em *C. annuum* foi relatada pela primeira vez por Halsted, em 1890 e duas espécies de fungo foram descritas como agentes causais, *Gloeosporium piperatum* E. & E. e *Colletotrichum nigrum* E. & H. Entretanto, em 1957 Von Arx redescreveu essas duas espécies como sinônimas de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. (PARK, 2005).

A antracnose é considerada uma importante doença do pimentão em várias partes do mundo, tais como Coréia (PARK; KIM, 1992; YOON; PARK, 2001), Índia (SHARMA et al., 2005), Indonésia (VOORRIPS et al., 2004), Tailândia (PAKDEEVARAPORN et al., 2005), China (SHIN et al., 1999), Taiwan (CHANG; CHUNG, 1985; MANANDHAR; HARTMAN; WANG, 1995) e Estados Unidos da América (MARVEL, 2003).

Na Coréia, as perdas anuais causadas pela antracnose têm sido estimadas em 100 milhões de dólares, sendo que na década de 1980 essas perdas aumentaram em média de 10% (PARK, KIM; 1992; SHIN et al., 1999). Em 1998, chuvas frequentes no sul da Flórida favoreceram a ocorrência da antracnose em frutos de pimentão, sendo constatado que cerca de 10-20% dos frutos foram severamente afetados (ROBERTS; PERNEZNY; KUCHARREK, 2001).

Inexistem informações precisas sobre as perdas causadas pela antracnose na produção brasileira de pimentão, mas a ocorrência dessa doença tem causado perdas

variáveis entre 35% e 70% nos campos de produção do estado da Virginia, Estados Unidos da América (ALEXANDER; MARVEL, 2002).

A antracnose em pimentão é causada por várias espécies de *Colletotrichum* Sacc. (AZEVEDO et al., 2006; KOIKE; GLADDERS; PAULUS, 2006). Em alguns países, a podridão seca de frutos causada por *C. capsici* é amplamente disseminada, capaz de causar perdas que variam entre 10 e 75%, que juntamente com *C. gloeosporioides*, constituem principais agentes causais da antracnose nos trópicos da Ásia. Também têm sido identificados *C. acutatum* Simmonds, *C. coccodes* (Wallr.) S. Hughes, *C. dematium* (Persoon & Fries) Grove, *C. gloeosporioides* e *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. & von Schrenk] infectando frutos de pimentão na Coreia (PARK; KIM; 1992; OH; KIM; KIM, 1999; AHN et al., 2004), *C. gloeosporioides*, *C. capsici* (Syd.) E. J. e *G. cingulata* em Taiwan (OH; KIM; KIM, 1999; PAKDEEVARAPORN et al., 2005), e *C. coccodes*, *C. gloeosporioides* e *C. acutatum* nos Estados Unidos (IVEY; NAVA-DIAZ; MILLER, 2004). No Brasil, a antracnose do pimentão tem sido atribuída a *C. gloeosporioides* (LOPES; ÁVILA, 2003; KUROSZAWA; PAVAN; KRAUSE-SAKATE, 2005; TOZZE JR.; MELLO; MASSOLA JR., 2006) e *C. acutatum* (TOZZE JR.; MELLO; MASSOLA JR., 2006). A primeira espécie é o principal agente da antracnose do pimentão em Pernambuco (XAVIER FILHA; MICHEREFF, 2006), a exemplo do constatado em outras regiões brasileiras (PEREIRA, 1995; HALFELD-VIEIRA et al., 2004; PEREIRA, 2005; TOZZE JR.; MELLO; MASSOLA JR., 2006) e em outros países (PARK; KIM, 1992; ALEXANDER; MARVEL, 2002).

*Colletotrichum gloeosporioides* (teleomorfo: *G. cingulata*) é um ascomiceto homotático, pertencente à subdivisão Ascomycota, ordem Phyllachorales, classe Pyrenomycetes e família Phyllachoraceae (SUTTON, 1980). As características morfológicas que identificam o gênero *Colletotrichum* são a conidiomata acervular, freqüentemente com setas, as quais apresentam hifas estéreis de coloração escura, não ramificada e com parede espessa; a presença do apressório através do aumento do volume com paredes espessas na extremidade do tubo da hifa ou do peg, para unir o fungo à superfície do hospedeiro antes da penetração do tecido. A reprodução sexual é via esporos endógenos (ascósporos), originados no interior de ascas e agamicamente por esporos formados sobre ramificações do micélio (conidióforos) ou no interior de corpos frutíferos denominados acérvulos. Os conídios nos acérvulos estão envolvidos por uma matriz mucilaginosa constituída de polissacarídeos e proteínas solúveis em água, que os

protegem da dissecação e aumenta a eficiência de germinação e penetração no tecido hospedeiro (PERFECT et al., 1999).

Existem indícios de que *C. gloeosporioides* apresenta especialização quanto à espécie de solanácea, pois em estudo da variabilidade patogênica de isolados de *C. gloeosporioides* por meio de inoculações cruzadas em frutos, com isolados de jiló (*Solanum gilo* Radd.), pimentão e berinjela (*Solanum melongena* L.), isolados de jiló apresentaram maior agressividade para frutos desta espécie e de berinjela. Os isolados de pimentão foram mais agressivos para a sua espécie e para berinjela, e os isolados de berinjela apresentaram menor agressividade para as três solanáceas. Deste modo, os autores concluíram que os isolados de *C. gloeosporioides* provenientes de jiló, pimentão e berinjela apresentaram, em maior ou menor grau, adaptação para as espécies hospedeiras. Os sintomas induzidos por isolados do patógeno provenientes do seu respectivo hospedeiro foram mais severos do que quando inoculados em outros hospedeiros (FERNANDES; SANTOS; RIBEIRO, 2002).

Em campos de produção de pimenta na Coréia foi relatada a predominância de 90% das infecções atribuídas a *C. gloeosporioides*, o mais virulento entre as cinco espécies de *Colletotrichum* constatadas durante o maior período de infecção (PARK; KIM, 1992). Posteriormente, os isolados de *C. gloeosporioides* foram classificados em estirpes G ou R, baseado na patogenicidade para frutos verdes ou vermelhos. A estirpe G causou sintomas de antracnose em ambos os frutos, mas a estirpe R somente em frutos de pimenta vermelha (KIM; OH; YANG, 1999).

As sementes constituem-se na fonte de inóculo responsável pela introdução do patógeno em áreas indenes (KUROZAWA; PAVAN; KRAUSE-SAKATE, 2005). O patógeno pode persistir em hospedeiros alternativos como tomate, batata, berinjela, jiló e pepino, e também em plantas cultivadas e invasoras. Ciclos secundários da antracnose desenvolvidos durante a estação de cultivo se originam de esporos produzidos sobre os frutos e cultivos contínuos de pimentão podem aumentar drasticamente a quantidade de inóculo. A disseminação do inóculo ocorre por respingos de água de chuva ou de irrigação por aspersão, associados ao vento. A severidade da antracnose do pimentão aumenta com alta umidade relativa do ar e períodos de chuva, além da irrigação por aspersão, que favorece o desenvolvimento da antracnose pela duração do período de molhamento (MONTEIRO; COSTA; ZAMBOLIM, 2000; LOPES; ÁVILA, 2003; CERKAUSKAS, 2004).

O processo inicial de infecção em frutos de pimentão por *C. gloeosporioides* inclui a germinação de conídios e produção de tubos germinativos com apressório adesivo na superfície do hospedeiro (MANANDHAR; HARTMAN; WANG, 1995). As condições ideais de temperatura para infecção do fungo são entre 20°C e 24°C, alta umidade relativa do ar e períodos de chuvas, sendo fundamental a presença de água livre na superfície do fruto para germinação dos esporos e penetração (AZEVEDO et al., 2006; KOIKE; GLADDERS; PAULUS, 2006). Após a inoculação, a germinação dos esporos na superfície de frutos de pimentão pode ocorrer dentro de 2 horas (MARVEL, 2003). Diferentes tipos de mucilagem são secretados e auxiliam na ancoragem de tubos germinativos e apressórios. Adicionalmente, muitos grupos de proteínas também podem ser produzidos com o objetivo de aumentar a ligação dessas estruturas à superfície do hospedeiro (CAVALCANTI, 2007).

A força mecânica exercida pelo apressório somente é possível com a melanização dessa estrutura, o que propicia a rigidez suficiente ao rompimento da cutícula. A melanina é um dos mais bem conhecidos produtos do metabolismo secundário dos fungos, apresentando um papel crítico na penetração do tecido hospedeiro. Muitos fungicidas, como o triciclazol, inibem especificamente a enzima redutase envolvida na biossíntese do dihidroxinaftaleno (DHN), que após a polimerização forma a melanina. Portanto, a redução da severidade de doenças causadas por *Colletotrichum* spp. por esses fungicidas é consequência da inibição da formação de melanina nos apressórios (KUBO et al., 1985). Pesquisas recentes evidenciaram a completa inibição da melanização do apressório de *Colletotrichum kahawae*, patógeno causador de doenças em grãos de café (CBD), pelos compostos catequina e epicatequina, presentes no epicarpo de frutos de café (CHEN et al., 2006).

A primeira barreira a ser ultrapassada pelos patógenos vegetais consiste na cutícula que tem como principal constituinte a cutina, um polímero onde os monômeros estão unidos por ligações éster (KOLATTUKUDY et al., 1995). As cutinases são esterases que apresentam no sítio ativo resíduos de serina, histidina e aspartato, capazes de catalisar a hidrólise das ligações éster, desagregando o polímero. Evidências indicam a participação de cutinases, hidrofobinas, lectinas, glicoproteínas e integrinas nesse processo. O papel dessas enzimas e proteínas consiste na retirada ou na degradação de ceras lipofílicas que recobrem a superfície do hospedeiro (CHEN et al., 2007).

A hifa trófica que forma da hifa de infecção interage com o exocarpo e tecidos do hospedeiro, estabelecendo a colonização intercelular e intracelular, levando ao



desenvolvimento de lesões (BAILEY et al., 1992). Durante o avanço do crescimento das hifas do fungo, ocorre a produção de substâncias tóxicas, capazes de matar as células vegetais como a produção e secreção de fitotoxinas que têm sido reportadas em diversas espécies de *Colletotrichum*. Essas fitotoxinas são classificadas como sendo toxinas não-específicas ao hospedeiro, visto que podem atuar sobre diferentes espécies dos mais variados gêneros (BAILEY et al., 1992).

Uma vez que os tecidos vegetais tenham sido colonizados com sucesso pelas espécies de *Colletotrichum*, o patógeno altera seu comportamento para a necrotrofia, alimentando-se de nutrientes que exsudam da célula. As células danificadas do hospedeiro apresentam aumento ao volume e decréscimo na densidade do citoplasma, dilatação do retículo endoplasmático e lamela de cloroplastos e aumento da fragilidade e permeabilidade da membrana plasmática. Sob condições ambientais e fisiológicas favoráveis à suscetibilidade, uma grande proporção de células colonizadas pode morrer antes de ser observado qualquer sintoma macroscópico da antracnose (LOPEZ, 2001).

O aparecimento dos sintomas da antracnose em pimentão pode ocorrer durante o desenvolvimento da cultura ou em pós-colheita (BLACK et al., 1991), os quais podem ser observados em todas as partes da planta de pimentão, mas apenas os frutos exibem sintomas típicos. Nestes, a infecção tem início pelo aparecimento de pequenas lesões circulares e deprimidas que rapidamente se expandem sem diâmetro definido e apresentam o centro com uma coloração negra, podendo muitas vezes atingir as sementes (KUROZAWA; PAVAN; KRAUSE-SAKATE, 2005). Quando a umidade relativa está muito alta, pode-se observar a formação de uma massa de coloração rósea ou alaranjada, que são os esporos do fungo produzidos juntos a uma mucilagem que os envolve inibindo sua germinação, onde a liberação ocorre somente com a presença de um filme de água (LOPES; ÁVILA, 2003).

Para o controle da antracnose do pimentão são recomendadas medidas integradas, destacando-se: escolher a área de plantio com boa drenagem; utilizar sementes saudáveis, com a realização de tratamento com fungicidas ou tratamento térmico com água a 52°C por 30 minutos; evitar o plantio de tomate, batata, berinjela, jiló e cucurbitáceas como culturas para rotação; efetuar o plantio em épocas secas e menos favoráveis ao ataque do patógeno; reduzir o adensamento no plantio para aumentar a aeração entre as plantas; fazer uma adubação equilibrada, sem excesso de nitrogênio; evitar irrigação por aspersão, pois favorece a disseminação do patógeno na área, dando preferência ao sistema de gotejamento; controlar plantas daninhas, pois podem ser

hospedeiras do fungo; coletar e destruir restos culturais; realizar a rotação de culturas por pelo menos um ano, utilizando gramíneas; efetuar pulverização preventiva com fungicidas registrados para a cultura desde o início da frutificação; embalar os frutos colhidos, apenas, quando estiverem secos; expor os frutos para comercialização em locais arejados (MONTEIRO; COSTA; ZAMBOLIM, 2000; BERKE et al., 2003; LOPES; ÁVILA, 2003; CERKAUSKAS, 2004; KOIKE; GLADDERS; PAULUS, 2006). Inexistem cultivares e híbridos comerciais de pimentão com bons níveis de resistência à antracnose em nível mundial (PARK, 2005).

A aplicação de fungicidas é, há muitos anos, o mais difundido método de controle da antracnose do pimentão no Brasil, sendo possível o uso de fungicidas registrados como produtos a base de clorotalonil, mancozeb, azoxistrobina e cobre, mas nem sempre é possível evitar as epidemias e a perda de eficiência de vários princípios ativos tem sido relatada (PEREIRA, 1995; FERNANDES; SANTOS; RIBEIRO, 2002; AZEVEDO et al., 2006). A adoção contínua do controle químico pode acarretar o surgimento de patógenos resistentes aos produtos utilizados, além da contaminação de alimentos e do ambiente, intoxicação de homens e animais, ressurgimento de algumas doenças e de outras, antes consideradas secundárias, tornando-se importantes (GHINI; KIMATI, 2000).

Nos últimos anos, com a introdução de vários híbridos e plantios predominantemente no período de inverno, a importância da antracnose vem aumentando nas áreas produtoras de pimentão do Agreste de Pernambuco, bem como as dificuldades no seu controle pelos métodos convencionais (XAVIER FILHA; MICHEREFF, 2006).

A necessidade de métodos mais seguros, eficientes, econômicos e não poluentes têm estimulado a busca de métodos alternativos de controle de doenças de plantas cultivadas por meio do controle biológico, da indução de resistência em plantas e do uso de produtos alternativos ao controle químico (STANGARLIN et al., 1999). No controle de problemas fitossanitários, os agricultores de forma empírica, preparavam e utilizavam na lavoura seus próprios produtos oriundos de espécies vegetais existente em sua propriedade. Entretanto, com as facilidades no uso dos agrotóxicos, aqueles produtos foram quase que totalmente abandonados e hoje, muitos deles são denominados de alternativos (CAMPANHOLA; BETTIOL, 2003).

A agricultura alternativa tem usado, de forma empírica, os extratos de plantas para o controle de doenças e pragas, por considerar a relativa inocuidade desses

produtos, os quais são, muitas vezes, feitos de forma caseira e pulverizados nas lavouras. Um grande número de plantas apresenta propriedades antifúngicas em seus extratos. Essas propriedades são dependentes de uma série de fatores inerentes às plantas, como órgão utilizado, idade e estágio vegetativo, bem como fatores do ambiente como o pH do solo, estação do ano e diferentes tipos de estresse também devem ser observados. A eficiência do produto também depende da espécie envolvida, do tipo de doença controlada e dos processos tecnológicos utilizados na obtenção e manipulação do extrato (SILVA et al., 2005).

Um extrato vegetal pode ser entendido como o produto obtido pela passagem de um solvente, como a água ou o álcool etílico através da planta moída ou não, de modo a se retirar os princípios ativos nela contidos (STADNIK; TALAMINI, 2004).

Trabalhos desenvolvidos com extratos brutos, obtidos a partir de plantas medicinais conhecidas, têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de composto(s) com característica de elicitador(es). O fracionamento dos metabólitos secundários dessas plantas, bem como a determinação da atividade biológica dessas moléculas, com respeito à atividade elicitora ou antimicrobianos poderá contribuir para a aquisição de maiores conhecimentos que reforcem sua possível utilização como um método alternativo de controle de doenças de plantas (SCHWAN-ESTRADA, 2002).

As propriedades antimicrobianas de substâncias presentes em extratos, frações, látex, óleos essenciais e proteínas de origem vegetal produzidos pelas plantas como uma consequência do metabolismo secundário são altamente enriquecidos em compostos de isopreno, denominados de terpenos ou terpenóides, os quais são reconhecidos empiricamente há séculos e foram comprovadas cientificamente apenas há poucos anos (JANSEN; SCHEFFER; BAERHEIM, 1987). Em muitos casos, esses metabólitos secundários produzidos por plantas atuam no seu mecanismo de defesa contra a ação de microorganismos, insetos e herbívoros. Esses compostos pertencem a várias classes distintas de substâncias químicas como alcalóides, ligninas, flavanóides, cumarinas, benzenóides, quinonas, xantonas, lactonas, esteróides e terpenóides (DI STASI, 1996; COWAN, 1999).

Estudos sobre as atividades antimicrobianas de extratos e óleos essenciais de plantas nativas têm sido relatados em muitos países tais como Brasil, Cuba, Índia, México e Jordânia, que possuem uma flora diversificada e uma rica tradição na

utilização de plantas medicinais. No Brasil, entretanto, apesar da rica biodiversidade, até 2005 só existiam disponíveis dados sobre 44 espécies de plantas pertencentes a 20 famílias, com atividade positiva, incluindo espécies nativas e exóticas (DUARTE et al., 2005).

As propriedades antimicrobianas de extratos de plantas provenientes de várias espécies têm sido comprovadas por afetar o desenvolvimento fúngico *in vitro* e *in vivo* (MONTES-BELMONT et al., 2000; BOWERS; LOCKE, 2000). Crescimento micelial, formação e germinação de esporos, e infecção podem, às vezes, serem estimulados ou inibidos por extratos de plantas (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2000).

Extratos brutos de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), alecrim-pimenta (*Lippia sidoides* Cham.), arruda (*Ruta graveolens* L.), babosa (*Aloe vera* (L.) Burm. F.), carqueja (*Baccharis trimera* Less.), cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum* L.), erva cidreira (*Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown), eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hook), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), goiabeira vermelha (*Psidium guayava* var. *pomifera* L.), hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.), manjerona (*Origanum majorana* L.), manjeriço (*Ocimum basilicum* L.), milfolhas (*Achillea millefolium* L.), orégano (*Origanum vulgare* L.), pitanga (*Stenocalyx michelli* Linn.), poejo (*Mentha pulegium* L.) e romã (*Punica granatum* L.), têm sido utilizados para estudos de inibição de crescimento micelial e esporulação de fungos fitopatogênicos (SCHWAN-ESTRADA, 2002).

Avaliações foram realizadas verificando o efeito fungicida de extratos aquoso de folhas de maçã (*Malus domestica* Mill.), folhas e sementes de mamão (*Carica papaya* L.) no desenvolvimento *in vitro* de *C. gloeosporioides* (BAUTISTA-BAÑOS, 2003). Além disso, o efeito antifúngico de extratos aquosos e etanólicos de *Alpinia galanga* L. Willd. e *Elettaria cardamomum* Maton. foi observado por Yulia, Shingleton e Coventry (2006) contra *C. gloeosporioides* em estudos *in vitro*, oriundo de frutos de Pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.)

Vários estudos já foram realizados para avaliar a eficiência de extratos de plantas no controle da antracnose em frutos causada por *C. gloeosporioides*, embora nenhum envolvendo pimentão. Como exemplo, extrato aquoso de folhas de hortelã-pimenta incorporado em BDA, a partir da concentração de 200 ppm, demonstrou efeito inibitório sobre *C. gloeosporioides*, agente de podridão em mamão (*Carica papaya* L.) (RIBEIRO; BEDENDO, 1999). O crescimento micelial e a germinação de conídios de *C. gloeosporioides*, agente de antracnose em manga, foram totalmente inibidos por

extratos de *Adenocalyma alleaceum* Miers e *Bougainvillea spectabilis* Willd. (PRABAKAR et al., 2003). Extrato de cravo-da-Índia inibiu em 100% o crescimento micelial e a germinação de esporos de um isolado de *C. gloeosporioides* causador de antracnose em goiaba (*Psidium guajava* L.) (ROZWALKA, 2003), bem como aplicado a 2,5% em frutos propiciou os melhores resultados na redução da doença (ROZWALKA et al., 2008).

A família Malvaceae, inclui a malva-rosa (*Malva* sp.) uma erva mucilagínosa levemente adstringente, citada na literatura etnofarmacológica como medicação capaz de suavizar as irritações dos tecidos e inflamações. A análise fitoquímica registrou a presença de 10-20% de mucilagem em suas folhagens (LORENZI; MATOS, 2002). Proteínas heterólogas de *Malva parviflora* L. foram caracterizadas por Wang e Bunkers (2000), com atividade antifúngica contra *Fusarium graminearum* Schwabe, posteriormente Wang et al. (2001), purificaram três outras proteínas com espectros de atividades antimicrobianas diferenciadas para *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary e *Fusarium graminearum*.

O gengibre é uma planta pertencente à família das Zingiberaceae, natural do Sul da Ásia (MATOS, 2002). É uma erva rizomatosa, ereta, com cerca de 50 cm de altura apresentando rizoma ramificado com cheiro e sabor picante. Produtos de gengibre tais como óleos e resinas, são internacionalmente comercializadas para o uso em processamentos farmacêutico e alimentício. É usado tradicionalmente pela medicina chinesa no tratamento de dor de cabeça, náusea e resfriado, além de dor muscular, artrite e reumatismo (DEDOV et al., 2002). Sua análise fitoquímica mostrou a presença de 1 a 2,5% de óleo volátil em cuja composição são encontrados citral, cineol, borneol e os sesquiterpenos zingibereno e bisaboleno, além de um óleo-resina rico em gingeróis - substâncias que são responsáveis pelo sabor forte e picante - possui o gingerol e o shogaol que são potentes molusquicidas (RUSLAY et al., 2007).

A família Liliaceae é constituída de 500 espécies, entre os quais o alho (*Allium sativum* L.), se diferenciando em aparência, cor e sabor, mas se aproximam no conteúdo bioquímico e fitoquímico. O alho é uma erva bulbosa de cheiro forte e característico. Originária provavelmente da Europa, é largamente cultivada em todo o mundo para uso como condimento de alimentos, além de ser usado na medicina tradicional desde a mais remota antiguidade para evitar ou curar males (MATOS, 2000). O princípio antibacteriano do alho foi identificado por Cavallito, em 1944, como dialil trissulfeto, e tem recebido o nome de alicina, que é formada pela descompartimentalização celular

quando os tecidos são danificados com a ação da alicina-liase, possuindo ação antiviral e bactericida. Dentre os modos de ação da alicina, são citados a inibição de enzimas essenciais no processo de infecção do patógeno (MIRON et al., 2000). O efeito inibitório do extrato de alho tem sido demonstrado para uma extensa gama de fungos (OBAGWU; KORSTEN, 2003), dentre eles *C. gloeosporioides* (TANSEY; APPLETON, 1975; IMTIAJ et al., 2005; PERAZA; CHAN; RUIZ, 2005; OGBEBOR; ADEKUNLE; ENOBAKHARE, 2007; VENKATARAVANAPPA; NARGUND, 2007).

A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes em extratos ou óleos essenciais de plantas medicinais podem constituir, ao lado da indução de resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (BIZI, 2006). O fracionamento e a determinação da atividade biológica de moléculas existentes nos extratos brutos com atividade elicitora ou antimicrobiana poderão contribuir para a aquisição de maiores conhecimentos que reforcem sua possível utilização como um método alternativo de controle de doenças de plantas (STANGARLIN et al., 1999).

A seleção de novas espécies vegetais a partir do conhecimento prévio de seu uso na medicina popular regional aumenta a chance da descoberta de componentes bioativos com propriedades fungicidas. No entanto, estudos químicos aprofundados e a elaboração de produtos naturais seguros e com controle de qualidade são necessárias para que o Brasil possa fazer uso de forma consistente de sua rica biodiversidade. Há registros de que até 2005, menos de 1% da flora medicinal brasileira foi estudada em profundidade, fazendo com que haja um campo aberto para estudos multidisciplinares aplicados na geração de tecnologias seguras (SILVA et al., 2005).

Os extratos caseiros apresentam algumas limitações, como a falta de controle de qualidade, a baixa estabilidade dos compostos orgânicos presentes nas soluções e o não monitoramento de possíveis substâncias tóxicas presentes nas plantas ou resultantes da decomposição dos produtos durante sua manipulação. Limitações como essas fazem com que seja necessária a investigação mais aprofundada dos extratos de plantas, bem como o desenvolvimento de produtos com maior nível tecnológico, para que tanto produtores quanto consumidores possam ter segurança na utilização de extratos brutos (SILVA et al., 2005).

O uso eficaz de medidas alternativas de controle é viável quando são conhecidos os fatores que afetam o desenvolvimento das doenças, principalmente aqueles

relacionados ao “triângulo de doenças” (ambiente, hospedeiro e patógeno). A interação desses fatores fornece as bases para a determinação de estratégias de controle de doenças (MAFFIA; MIZUBUTI, 2005).

É indiscutível a importância da antracnose do pimentão para a agricultura brasileira e mundial e a pesquisa tem se voltado para alternativas de controle dessa enfermidade sobre diversos hospedeiros com a utilização de extratos e óleos de plantas. Diante disso, a presente dissertação teve como objetivos avaliar a eficiência de extratos de plantas no controle da antracnose em pimentão bem como, analisar a estabilidade do controle dos tratamentos promissores em relação a diferentes concentrações dos extratos, concentrações do inóculo e isolados do patógeno e, temperaturas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHN, P. et al. Signaling pathways involved in preinfection development of *Colletotrichum gloeosporioides*, *C. coccodes* and *C. dematium* pathogenic on red pepper. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 63, n.2, p. 281-289, 2003.

ALEXANDER, S. A.; MARVEL, J. K. *Colletotrichum gloeosporioides* causes severe anthracnose on pepper in Virginia. **Phytopathology**, St. Paul, v. 92, n. 6, p. 142, 2002.

AZEVEDO, C. P. **Epidemiologia e controle da antracnose em *Capsicum* spp. e identificação de *Colletotrichum* spp. associados às solanáceas cultivadas**. 2006, 102 f. Tese (Doutorado) - Universidade de Brasília, Brasília, DF.

AZEVEDO, C. P. et al. Arrasadora. **Revista Cultivar Hortaliças e Frutas**, Pelotas, n. 34, p. 18-20, 2005.

AZEVEDO, C. P. et al. **Recomendações de manejo da antracnose do pimentão e das pimentas**. Brasília: Embrapa hortaliças, 2006. 4 p. (Embrapa Hortaliças. Comunicado Técnico, 35).

BAILEY, J. A. et al. Infection strategies of *Colletotrichum* species. In: BAILEY, J. A.; JEGER, M. J. (EDS.). ***Colletotrichum*: biology, pathology and control**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 88-120.

BAUTISTA-BAÑOS, S. et al. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. **Crop Protection**, Oxford, v. 22, p. 1087-1092, 2003.

BERKE, T. G. et al. **Suggested cultural practices for sweet pepper**. Shanhua: Asian Vegetable Research and Development Center, 2003. 5 p. (AVRDC. International Cooperators' Guide, 497).

BIZI, R. M. **Alternativas de controle do mofo-cinzento e do oídio em mudas de eucalipto**. 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.



BLACK, L. L. et al. **Pepper diseases**: a field guide. Shanhua; Asian Vegetable Research and Development Center, 1991. 98 p. (AVRDC. Publication, 347).

BOSLAND, P. W.; VOTAVA, E. **Peppers**: vegetable and spice capsicums. Wallingford: CABI Publishing, 1999. 204 p.

BOWERS, J. H.; LOCKE, J. C. Effect of botanical extracts on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of Fusarium wilt in the greenhouse. **Plant Disease**, St. Paul, v. 84, n. 3, p. 300-305, 2000.

CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. Situação e principais entraves ao uso de métodos alternativos aos agrotóxicos no controle de pragas e doenças na agricultura. In: CAMPANHOLA, C.; BETTIOL, W. (Eds.). **Métodos alternativos de controle fitossanitário**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2003. p. 265-279.

CARVALHO, S. I. C.; BIANCHETTI, L. B.; HENZ, G. P. Germoplasm collection of *Capsicum* spp. maintained by Embrapa Hortaliças (CNPq). **Capsicum and Eggplant Newsletter**, Torino, v. 22, p.17-20, 2003.

CASALI, W. D.; PÁDUA, J. G.; BRAZ, L. T. Melhoramento de pimentão e pimenta. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 10, n. 113, p.19-22, 1984.

CAVALCANTI, L. S. Toxinas e exoenzimas relacionadas à patogênese de *Colletotrichum*. In: WORKSHOP REGIONAL SOBRE COLLETOTRICHUM, 1., Recife, 2007. **Palestras...** [CD-Rom].

CEASA-PE. **Calendário de comercialização**. Recife: Central de Abastecimento Alimentar de Pernambuco, 2008. Disponível em: <[http://www.ceasape.org.br/calend\\_municipios.php](http://www.ceasape.org.br/calend_municipios.php)>. Acesso em: 01 Fev. 2008.

CERKAUSKAS, R. **Pepper diseases**: anthracnose. Shanhua; Asian Vegetable Research and Development Center, 2004. 2 p. (AVRDC. Fact Sheet, 574).

CHANG, S. H.; CHUNG, B. K. Studies on the varietal resistance and effect of nutrients for fungal growth of pepper anthracnose disease caused by *Colletotrichum dematium* f.sp. *capsicum*. **Korean Journal Mycological**, Seoul, v. 13, n. 2, p. 227-234, 1985.

CHEN, Z. et al. Epicatechin and catechin may prevent coffee berry disease by inhibition of appressorial melanization of *Colletotrichum kahawae*. **Biotechnology Letters**, London, v. 28, p.1637–1640, 2006.

CHEN, Z. et al. Purification and identification of cutinases from *Colletotrichum kahawae* and *Colletotrichum gloeosporioides*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, London, v. 73, p.1306-1313, 2007.

CORREIA, L. C. Colheita, rendimento, classificação, embalagem e comercialização de pimentão e pimenta. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 10, n. 113, p. 70-72, 1984.

COWAN, M. M. Plant products as antimicrobial agents. **Clinical Microbiology Reviews**, New York, v. 12, n. 6, p. 564-582. 1999.

DEDOV, V. N. et al. Gingerols: a novel class of vanilloid receptor (VR1) agonists. **Journal of Pharmacology**, Leiden, v. 137, n. 6, p. 793-798, 2002.

DE WITT, D.; BOSLAND, P. W. A brief history of pepper growing. In: DE WITT, D.; BOSLAND, P.W. (Eds.). **The pepper garden**. Berkeley: Ten Speed, 1993. p. 5-21.

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais**: arte e ciência - um guia de estudos multidisciplinar, São Paulo: Universidade Paulista, 1996. 215 p.

DUARTE M. C. T. et al. Anti-*Candida* activity of essential oils and extracts from native and exotic medicinal plants used in Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, Dublin, v. 97, n. 3, p. 305-311, 2005.

FERNANDES, M. C. A.; SANTOS, A. S.; RIBEIRO, R. L. D. Adaptação patogênica de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* obtidos de frutos de jiloeiro, pimentão e berinjela. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 28, n. 4, p. 325-330, 2002.

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo manual de olericultura**. Viçosa: Editora UFV, 2000. 402 p.

FNP. **Agriannual 2007** - anuário da agricultura brasileira. São Paulo: Instituto FNP Consultoria e Comércio, 2007. 345 p.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78 p.

HALFELD-VIEIRA, B. A. et al. Incidência da antracnose em frutos de cinco híbridos de pimentão em condições de cultivo protegido. **Fitopatologia Brasileira**, Fortaleza, v. 29, Suplemento, p. 33, 2004 (resumo).

IMTIAJ A. et al. Effect of Fungicides and plant extracts on the conidial germination of *Colletotrichum gloeosporioides* causing mango anthracnose. **Mycrobiology**, Moscow, v. 33, n.4, p. 200-205, 2005.

IVEY, M. L. L.; NAVA-DIAZ, C.; MILLER, S. A. Identification and management of *Colletotrichum acutatum* on immature bell pepper. **Plant Disease**, St. Paul, v. 88, n.11, p. 1198-1204, 2004.

JANSEN A. M.; SCHEFFER J. J. C.; BAERHEIM S. A. Antimicrobial activity of essential oils from Greek *Sideritis* species. **Pharmazie**, Berlin, v. 45, n. 1, p. 70, 1987.

KIM, K. D.; OH, B. J.; YANG, J. Differential interactions of a *Colletotrichum gloeosporioides* isolated with green and red pepper fruits. **Phytoparasitica**, Bet Degan, v. 27, n. 2, p. 97-106, 1999.

KIM, C. H.; PARK, K. S. A predictive model of disease progression of red-pepper anthracnose. **Korean Journal of Plant Pathology**, Seoul, v. 4, n. 3, p. 325-331, 1988.

KO, M. K. et al. *Colletotrichum gloeosporioides*-induced esterase gene of nonclimacteric pepper (*Capsicum annuum*) fruit during ripening plays a role in resistance against fungal infection. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 58, n. 4, p. 529-541, 2005.

KOIKE, S. T.; GLADDERS, P.; PAULUS, A. O. **Vegetable diseases: a color handbook**. San Diego: Academic Press, 2006. 320 p.

KOLATTUKUDY, P. E. et al. Surface signalling in pathogenesis. **Proceedings of the National Academy Science**, Washington, v. 92, p. 4080-4087, 1995.

KUBO Y. et al. Melanin biosynthesis as a prerequisite for penetration by appressoria of *Colletotrichum lagenarium*: site of inhibition by melanin-inhibiting fungicides and their

action on appressoria. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, Tokyo, v. 23, p. 47-55, 1985.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A.; KRAUSE-SAKATE, R. Doenças das solanáceas. In: KIMATI, H. et al. (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 589-596.

LOPES, C. A.; ÁVILA, A. C. **Doenças do pimentão: diagnose e controle**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2003. 96 p.

LOPEZ, A. M. Q. Taxonomia, patogênese e controle de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo, v. 9, p. 291-338, 2001.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 544p.

MAFFIA, L. A.; MIZUBUTI, E. S. G. Controle alternativo de fungos. In: VENEZON, M.; PAULA JR., T. J.; PALLINI, A. (Eds.). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, 2005. p. 269-293.

MANANDHAR, J. B.; HARTMAN, G. L.; WANG, T. C. Anthracnose development on pepper fruits inoculated with *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 4, p. 380-383, 1995.

MARVEL, J. K. **Biology and control of pepper anthracnose**. 2003, 84 f. Thesis (PhD) - Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, USA.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais** - guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. 2. ed. Fortaleza: Imprensa Universitaria/UFC, 2000. 344 p.

MATOS, F. J. A. **Farmácias vivas** – Sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 4. ed. Fortaleza: Imprensa Universitaria/UFC, 2002. 390 p.

MIRON T. et al. The mode of action of allicin. **Biochimica et Biophysica Acta**, Paris, v. 1463, n. 1, p. 20-30, 2000.

MONTEIRO, A. J. A.; COSTA, H.; ZAMBOLIM, L. Doenças causadas por fungos e bactérias em pimentão e pimenta. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; COSTA, H. (Eds.). **Controle de doenças de plantas: hortaliças**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2000. v. 2, p. 637-675.

MONTES-BELMONT, R et al. Propiedades antifúngicas en plantas superiores - análisis retrospectivo de investigaciones. **Revista Mexicana de Fitopatología**, Sonora, v. 18, n. 2, p. 125-131, 2000.

OBAGWU, J.; KORSTEN, L. Control of citrus green and blue molds with garlic extracts. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 109, n. 2, p. 221-225, 2003.

OGBEBOR, N. O.; ADENKULE, A. T.; ENOBAKHARE, D. A. Inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sac. causal organism of rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.) leaf spot using plant extracts. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 6, n. 3, p.213-218. 2007.

OH, B. J.; KIM, K. D.; KIM, Y. S. Effect of cuticular wax layers of green and red pepper fruits on infection by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 147, n. 6, p. 547-552, 1999.

PAKDEEVARAPORN, P. et al. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici* in *Capsicum*. **Plant Breeding**, Dordrecht, v. 124, n. 2, p. 206-208, 2005.

PARK, S. K. **Differential interaction between pepper genotypes and *Colletotrichum* isolates causing anthracnose**. 2005, 56 f. Dissertation (MSc) - Seoul National University, Seoul, Korea.

PARK, K. S.; KIM, C. H. Identification, distribution, and etiological characteristics of anthracnose fungi of red pepper in Korea. **Korean Journal of Plant Pathology**, Seoul, v. 8, n. 1, p. 61-69, 1992.

PERAZA, S. S. R; CHAN, C. E. O; RUIZ, S. E. Screening of yucatecan plant extracts to control *Colletotrichum gloeosporioides* and isolation of a new pimarene from *Acacia*

*pennatula*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Kansas, v. 53 n.7 p. 2429-2432, 2005.

PEREIRA, R. M. F. **Caracterização morfológica, fisiológica, sorológica e eletroforética de *Colletotrichum gloeosporioides* “sensu” Arx, isolados de pimentão (*Capsicum annuum* L.) e jiló (*Solanum gilo* Raddi), e seu controle químico**. 1995, 151 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

PEREIRA, M. J. Z. **Reação de acessos de *Capsicum* spp. a *Colletotrichum* sp., agente causal da antracnose das solanáceas**. 2005, 74 f. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP.

PERFECT, S. E. et al. *Colletotrichum*: a model genus for studies on pathology and fungal plant interactions. **Fungal Genetics and Biology**, New York, v. 27, n.1, p. 186-198, 1999.

PICKERSGILL, B. Genetic resources and breeding of *Capsicum* spp. **Euphytica**, Wageningen, v. 96, n. 1, p. 129-133, 1997.

PRABAKAR, K. et al. Effect of plant products on the mycelial growth and conidial germination of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease of mango fruits. **Madras Agricultural Journal**, Madras, v. 90, n. 10-12, p. 707-710, 2003.

REIFSCHNEIDER, F. J. B. (Org.). ***Capsicum*: pimentas e pimentões no Brasil**. Brasília: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia / Embrapa Hortaliças, 2000. 113 p.

REIFSCHNEIDER, F. J. B.; RIBEIRO C. S. C. **Introdução e importância econômica**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2004. Disponível em: <<http://www.cnph.embrapa.br/sistprod/pimenta/index.htm>>. Acesso em: 01 Fev. 2008.

RIBEIRO, L. F.; BEDENDO, I. P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 56, n. 4, p. 1267-1271, 1999.

ROBERTS, P. D.; PERNEZNY, K. L.; KUCHARREK, T. A. **Anthracnose caused by *Colletotrichum* sp. on pepper**. Gainesville: University of Florida, 2001. 3 p.

ROZWALKA, L. C. **Controle alternativo em frutos de antracnose em frutos de goiabeira**. 2003, 45 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

ROZWALKA, L. C. et al. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p. 301-307, 2008.

RUSLAY, S. et al. Characterization of the components present in the active fractions of health gingers (*Curcuma xanthorrhiza* and *Zingiber zerumbet*) by HPLC–DAD–ESIMS. **Food Chemistry**, London, v. 107, n.11, p. 1183-1191, 2007.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Potencial de extratos e óleos essenciais de vegetais como indutores de resistência plantas medicinais. In: PASCHOLATI, S. F. (Cord.). REUNIÃO BRASILEIRA SOBRE INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS CONTRA FITOPATÓGENOS, 1., São Pedro, SP, 2002. **Resumos ...** Piracicaba: FEALQ, 2002. p.27-28.

SHARMA, P. N. et al. Morphological, pathological and molecular variability in *Colletotrichum capsici*, the cause of fruit rot of chillies in the Subtropical Region of North-western India. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 153, n. 2, p. 232-237, 2005.

SHIN, H. J. et al. Comparison of pepper anthracnose pathogens from Korea and China. **Plant Pathology Journal**, Seoul, v.15, n. 3, p. 323-329, 1999.

SILVA, M. B. et al. Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas. In: VENEZON, M.; PAULA JR., T. J.; PALLINI, A. (Eds.). **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, 2005. p. 221-246.

STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Eds.). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. p. 45-62.

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

SUTTON, B. C. **The coelomycetes**: fungi imperfect with pycnidia, acervuli and stromata. Kew: Commonwealth Mycological Institute, 1980. 696 p.

TANSEY, M. R.; APPLETON, J. A. Inhibition of fungal growth by garlic extract **Mycologia**, Bronx, v. 67, n. 4, p. 409-413, 1975.

TOZZE JR., H. J.; MELLO, M. B. A.; MASSOLA JR., N. S. Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32, n. 1, p.71-79, 2006.

VENKATARAVANAPPA, V.; NARGUND, V. P. Fungitoxic properties of some medicinal and aromatic plants against *Colletotrichum gloeosporioides*. **Annals of Plant Protection Sciences**, New Delhi, v. 15, n. 2, p.513-514, 2007.

VOORRIPS, R. E. et al. QTL mapping of anthracnose (*Colletotrichum* spp.) resistance in a cross between *Capsicum annuum* and *C. chinense*. **Theoretical and Applied Genetics**, Dordrecht, v. 109, n. 12, p. 1275-1282, 2004.

WANG, X.; BUNKERS, G. J. Potent heterologous proteins from Cheeseweed (*Malva parviflora*). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 279, p. 669-673, 2000.

WANG, X. et al. Purification and characterization of three antifungal proteins from Cheeseweed (*Malva parviflora*). **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Orlando, v. 282, p. 1224-122, 2001.

XAVIER FILHA, M. S.; MICHEREFF, S. J. **Antracnose do pimentão**. Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2006. 2 p. (Manejo de Doenças de Hortaliças. Informativo Técnico, 1).

YOON, J. B.; PARK, H. G. Screening methods for resistance to pepper fruit anthracnose: pathogen sporulation, inoculation methods related to inoculum concentrations and post-inoculation environment. **Journal of the Korean Society for Horticultural Science**, Seoul, v. 42, n. 4, p. 389-393, 2001.



YULIA, E.; SHIPTON, W. A.; COVENTRY, R. J. Activity of some plant oil and extracts against *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Pathology Journal**, Karachi, v. 5, n. 2, p. 253-257, 2006.

## **Capítulo II**

---

---

### **Eficiência de extratos vegetais brutos no controle da antracnose em frutos de pimentão**

# Eficiência de Extratos Vegetais Brutos no Controle da Antracnose em Frutos de Pimentão

Kézia Ferreira Alves<sup>1</sup>, Delson Laranjeira<sup>1</sup>, Sami Jorge Michereff<sup>1\*</sup>, Marcos Paz Saraiva Câmara<sup>1</sup> e Cláudio Augusto Gomes da Câmara<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Agronomia; Área de Fitossanidade; Universidade Federal Rural de Pernambuco; 52171-900; kfamestre@gmail.com; Recife – PE - Brasil

<sup>2</sup>Departamento de Química; Área de Química Orgânica; Universidade Federal Rural de Pernambuco; 52171-900; Recife - PE - Brasil

## ABSTRACT

*This study aimed to evaluate the efficiency of plant extracts to control pepper anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*, and to analyze the control stability of the best treatments in relation to different extract concentrations, inoculum concentrations, pathogen isolates and temperatures. In the preliminary screening among the 16 plant species evaluated including aqueous and ethanolic extracts, the best were aqueous extracts of garlic, mallow and ginger which reduced more than 97% of disease severity. Garlic extract required the highest concentrations to reduce severity in 75% (CL<sub>75</sub>) when compared with ginger and mallow extracts but differed from them showing the best efficiency stability in relation to different inoculum concentrations and isolates of *C. gloeosporioides*, besides to keep more than 90% efficiency at 20-30 °C.*

**Key words:** *Capsicum annuum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, plant extracts, plant disease control

---

\*Autor para correspondência

## INTRODUÇÃO

A antracnose é uma importante doença do pimentão (*Capsicum annuum* L.) no Brasil (Azevedo *et al.*, 2005; 2006;) e em várias partes do mundo (Marvel, 2003; Park, 2005). Em condições de clima ameno a quente e épocas chuvosas, quando não são adotadas medidas adequadas de controle, as perdas de produção de frutos podem chegar a 100% (Kurozawa *et al.*, 2005; Azevedo *et al.*, 2006).

Em pimentão a antracnose é causada por várias espécies de *Colletotrichum* Sacc., mas no Brasil tem sido atribuída principalmente a *C. gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. (Kurozawa *et al.*, 2005; Azevedo *et al.*, 2006), embora o envolvimento de *C. acutatum* Simmonds tenha sido comprovado recentemente (Tozze Jr. *et al.*, 2006).

Os sintomas da antracnose podem ocorrer durante o desenvolvimento da cultura no campo ou em pós-colheita, mas somente os frutos exibem sintomas típicos. Nestes, a infecção tem início pelo aparecimento de pequenas lesões circulares e deprimidas que rapidamente se expandem sem diâmetro definido. Quando a umidade relativa está muito alta, pode ser observada a formação de uma massa de coloração rósea ou alaranjada, que são os esporos do fungo produzidos juntos a uma mucilagem (Lopes & Ávila, 2003).

Os danos causados pela antracnose em pimentão podem ser minimizados quando são adotadas medidas de manejo integrado, dentre as quais o uso de sementes sadias de origem conhecida e a aplicação de fungicidas registrados. No entanto, nem sempre é possível evitar as epidemias e a perda de eficiência de vários princípios ativos tem sido relatada (Fernandes *et al.*, 2002; Pereira, 2005; Azevedo *et al.*, 2006). Além disso, inexistem cultivares e híbridos comerciais de pimentão com bons níveis de resistência à antracnose em nível mundial (Park, 2005). Portanto, há necessidade da investigação de novas alternativas de controle para o estabelecimento de um programa de manejo integrado da doença.

A necessidade de métodos mais seguros, eficientes, econômicos e não poluentes têm estimulado a busca de métodos de controle de doenças de plantas alternativos ao uso de produtos químicos (Stangarlin *et al.*,

1999). De forma empírica, os extratos de plantas têm sido utilizados em sistemas de produção agrícola alternativa para o controle de doenças de plantas, os quais são, muitas vezes, produzidos de forma caseira a partir de materiais disponíveis na propriedade e pulverizados nas lavouras (Silva *et al.*, 2005). Extratos brutos de plantas que possuem compostos secundários vêm sendo investigados quanto ao potencial de controle de fitopatógenos, destacando-se alguns com comprovadas propriedades antimicrobianas que afetam o desenvolvimento fúngico *in vitro* e *in vivo* (Montes-Belmont *et al.*, 2000; Schwan-Estrada, 2002).

Vários estudos já foram realizados para avaliar a eficiência de extratos de plantas no controle da antracnose em frutos causada por *C. gloeosporioides*, embora nenhum envolvendo pimentão. Como exemplo, extrato aquoso de folhas de hortelã-pimenta (*Mentha piperita* L.), incorporado em BDA, a partir da concentração de 200 ppm, demonstrou efeito inibitório sobre *C. gloeosporioides*, agente de podridão em mamão (*Carica papaya* L.) (Ribeiro & Bedendo, 1999). O crescimento micelial e a germinação de conídios de *C. gloeosporioides*, agente de antracnose em manga, foram totalmente inibidos por extratos de *Adenocalyma alleaceum* Miers e *Bougainvillea spectabilis* Willd. (Prabakar *et al.*, 2003). Extrato de cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum* L.) inibiu em 100% o crescimento micelial e a germinação de esporos de um isolado de *C. gloeosporioides* causador de antracnose em goiaba (*Psidium guajava* L.) (Rozwalka, 2003), bem como aplicado a 2,5% em frutos propiciou os melhores resultados na redução da doença (Rozwalka *et al.*, 2008).

O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de extratos brutos de plantas no controle da antracnose em pimentão, bem como analisar a estabilidade do controle dos tratamentos promissores em relação a diferentes concentrações dos extratos, concentrações do inóculo e isolados do patógeno e, temperaturas.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Espécies vegetais

Foram utilizadas 16 espécies vegetais. As plantas utilizadas foram selecionadas baseadas na medicina popular e na literatura quanto ao potencial de atividade antimicrobiana contra fitopatógenos. As espécies utilizadas como extratos aquosos foram: erva cidreira (*Melissa officinalis* L.), manjerona (*Origanum majorana* L.), manjerição (*Ocimum basilicum* L.), malva (*Malva* sp.), mastruz (*Chenopodium ambrosioides* L.), losna (*Artemisia abisinthium* L.), alho (*Allium sativum* L.), gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe.) e cravo-da-Índia (*Syzygium aromaticum* L.). As espécies utilizadas como extratos hidroalcoólicos foram: cróton selowii (*Croton selowii* Baill.), cróton micans (*Croton Micans* Muell.), vernonia brasileira (*Vernonia herbacea* Vell.), vernonia brasileira (caule), pereiro do sertão (*Aspidosperma pyrifolium* Mart.), pereiro do sertão (casca), leucena (*Leucena leucocephala* De Wit.), prótium (*Protium bahianum* Daly) e calabura (*Muntingia calabura* L.), totalizando 18 tratamentos. As partes das plantas utilizadas foi bulbo, casca, caule, folha, inflorescência e rizoma. As sete primeiras espécies foram coletadas numa área de produção orgânica no município de Chã Grande (PE), as três subseqüentes obtidas na Central de Abastecimento de Pernambuco (CEASA-PE) e as demais cedidas pelo Laboratório de Produtos Naturais Bioativos do Departamento de Química da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

### Preparação dos extratos aquosos e hidroalcoólicos

Para obtenção dos extratos aquosos, após a coleta o material vegetal foi submetido ao desfolhamento e as folhas distribuídas em bandejas para a redução do teor de umidade. Decorridos 5 dias de manutenção das bandejas à temperatura de  $30 \pm 2$  °C e  $55 \pm 5\%$  de umidade relativa do ar, as folhas foram trituradas em liquidificador industrial por 5 minutos para obtenção do extrato aquoso na concentração desejada. Utilizou-se 200g de folhas trituradas de cada espécie, as quais foram imersas em 1000 mL de água destilada e esterilizada, durante três dias consecutivos ao abrigo da luz. Posteriormente, esse extrato foi filtrado em camada dupla de gaze e acondicionado em frascos de vidro envolvidos em papel alumínio e mantidos por 30 dias à temperatura de  $25 \pm 2$  °C.

Para obtenção do extrato de alho, gengibre e cravo-da-índia foram utilizados 200g de bulbos, rizoma e inflorescência, respectivamente, os quais foram pesados e triturados em liquidificador industrial para 1000 ml de água destilada e esterilizada, sendo posteriormente filtrados em camada dupla de gaze. Esses extratos foram preparados momentos antes de cada bioensaio.

Para obtenção do extrato hidroalcoólico, folhas, cascas e caule de cada espécie vegetal foram previamente secas em estufa com aeração (45 °C), trituradas, pesadas e acondicionadas em recipiente com etanol. O tempo de contato das folhas trituradas com solvente (etanol) foi de 24 horas. Para se obter a concentração desejada de 1% de solução hidroalcoólica, foi pesado 1 mg de extrato bruto, solubilizado com etanol adicionado de 100 mL de água.

### **Fitopatógeno e preparo do inóculo**

Em todos os experimentos foram utilizados isolados monospóricos de *C. gloeosporioides*, obtidos de frutos de pimentão apresentando sintomas típicos de antracnose, coletados em plantios comerciais do Estado de Pernambuco. O inóculo fúngico foi produzido em placas de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), mediante incubação por 10 dias a 25±2 °C, sob alternância luminosa (12h claro/12h escuro). As suspensões de esporos foram preparadas pela adição de 20 mL de água destilada esterilizada à superfície das culturas, raspagem com escova de cerdas macias, filtragem em camada dupla de gaze e ajuste da concentração em hemacitômetro.

### **Seleção preliminar de extratos brutos visando o controle da antracnose do pimentão**

Frutos sadios de pimentão (cv. Atlante), no estágio de maturação comercial, foram lavados e desinfestados pela imersão em NaClO 0,05% por 5 minutos e secagem em câmara asséptica. Cada fruto foi marcado na superfície em quatro pontos equidistantes, onde foram efetuados quatro ferimentos de aproximadamente 3 mm de profundidade com o auxílio de uma almofada com alfinetes desinfestados e realizada atomização de 20µl de solução do extrato vegetal na concentração desejada de 20% para extratos aquosos e 1% com extratos etanólicos, suplementada com Tween 20 (0,05%). Duas horas após, os ferimentos foram inoculados com 20 µl da suspensão de conídios ( $2 \times 10^5$  conídios mL<sup>-1</sup>) de *C. gloeosporioides* (CFM-729), suplementada com Tween 20. A testemunha consistiu da atomização com água destilada esterilizada suplementada com Tween 20 e posterior inoculação com a suspensão de conídios do patógeno. Após a inoculação, os frutos foram mantidos por 24 horas sob elevada umidade relativa (≥90%), em câmara úmida constituída de bandejas plásticas contendo quatro camadas de papel toalha umedecidas com 100 mL de água destilada esterilizada, acondicionadas em sacos de polietileno. O contato dos frutos com a água foi evitado pela colocação de cada fruto sobre uma tampa de placa de Petri esterilizada. As bandejas foram mantidas a 25±2 °C e sob alternância luminosa (12h claro/12h escuro). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com seis repetições, sendo cada repetição constituída de três frutos.

A avaliação foi efetuada aos sete dias após a inoculação, pela análise da severidade da antracnose em cada ponto inoculado, determinando-se a área lesionada externa pela mensuração do comprimento da lesão em dois sentidos diametralmente opostos. Com os dados de severidade da doença na testemunha (STE) e nos tratamentos com aplicação dos extratos aquosos e hidroalcoólico (STR), foi calculada a eficiência na redução da severidade da doença (EFI), onde  $EFI = ((STE - STR) / STE) \times 100$ . Os dados de EFI obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan (P=0,05).

### **Influência da concentração dos extratos aquosos de alho, gengibre e malva na eficiência do controle da antracnose do pimentão**

A influência das concentrações dos extratos aquosos de alho, gengibre e malva, que demonstraram maior eficiência no controle da antracnose na seleção preliminar, na eficiência do controle da antracnose, foi avaliada em dois experimentos independentes. No primeiro, os extratos foram aplicados nas concentrações de 6%, 10%, 16% e 20%, sendo esta última utilizada na seleção preliminar. Não havendo diferenças entre a máxima e a mínima concentração quanto à eficiência no controle da antracnose, a menor dosagem foi utilizada como base no segundo experimento, onde os extratos foram aplicados nas

concentrações de 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1%, 3% e 6%. Em ambos os experimentos, os demais procedimentos foram os mesmos adotados na seleção preliminar. O delineamento em ambos os experimentos foi inteiramente casualizado com seis repetições, sendo no primeiro em arranjo fatorial 3x4 e no segundo em arranjo fatorial 3x7. Os dados de EFI obtidos no segundo experimento foram utilizados para estimar a concentração de extrato suficiente para reduzir em 75% a severidade da doença ( $CL_{75}$ ), pela análise de regressão linear simples, tendo Ln (concentração de extrato) como variável independente e EFI como variável dependente. Os dados de  $CL_{75}$  foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan ( $P=0,05$ ).

#### **Influência da concentração do inóculo do patógeno na eficiência do controle da antracnose do pimentão pelos extratos aquosos de alho, gengibre e malva**

Utilizando os mesmos procedimentos da seleção preliminar e os extratos aquosos de alho, gengibre e malva na concentração de 6%, foi avaliada a influência de cinco concentrações do inóculo do patógeno ( $1 \times 10^1$ ,  $1 \times 10^2$ ,  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  conídios  $mL^{-1}$ ) na eficiência do controle da antracnose em frutos de pimentão. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3x5, com seis repetições. Os dados de EFI foram submetidos à análise de regressão linear simples, tendo concentração de inóculo do patógeno como variável independente e EFI como variável dependente. A redução da eficiência do controle (TRE) foi estimada pelo parâmetro  $b$  da equação de regressão. Os dados de TRE obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan ( $P=0,05$ ).

#### **Influência do isolado de *C. gloeosporioides* na eficiência do controle da antracnose do pimentão pelos extratos aquosos de alho, gengibre e malva**

Os extratos aquosos de alho, gengibre e malva a 6% foram avaliados quanto à eficiência no controle da antracnose induzida em relação a sete isolados *C. gloeosporioides*: CFM-727, CFM-729, CFM-730, CFM-905, CFM-1070, CFM-1073 e CFM-1076. Os extratos foram aplicados na concentração de 6% e os isolados do patógeno inoculados na concentração de  $2 \times 10^5$  conídios  $mL^{-1}$ . Os demais procedimentos foram os mesmos adotados na seleção preliminar. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em arranjo fatorial 3x7, com seis repetições. Os dados de EFI obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan ( $P=0,05$ ).

#### **Influência da temperatura na eficiência do controle da antracnose do pimentão pelos extratos aquosos de alho, gengibre e malva**

Os extratos aquosos de alho, gengibre e malva foram avaliados quanto à eficiência no controle da antracnose em relação às temperaturas de 10, 15, 20, 25, 30 e 35 °C. Os extratos foram aplicados na concentração de 6% e após a inoculação do patógeno na concentração de  $2 \times 10^5$  conídios  $mL^{-1}$ , as bandejas contendo os frutos foram mantidas em incubadoras tipo BOD nas diferentes temperaturas, sob alternância luminosa (12h claro/12h escuro). Os demais procedimentos foram os mesmos adotados na seleção preliminar. Os dados de EFI obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Duncan ( $P=0,05$ ).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Houve diferença significativa entre os extratos brutos quanto aos níveis de eficiência do controle da antracnose do pimentão. Dentre os 18 tratamentos avaliados na seleção preliminar, os extratos aquosos de alho, malva e gengibre destacaram-se dos demais, propiciando reduções superiores a 97% nos níveis de severidade e diferindo dos demais tratamentos. Por outro lado, o extrato aquoso de cravo-da-Índia apresentou a menor eficiência, com redução de apenas 30,5% na severidade da antracnose do pimentão. Os demais extratos aquosos e hidroalcolicos apresentaram comportamento intermediário, com eficiências de controle variando de 41,5% (cróton selowii) a 87,7% (losna) (Figura 1).

O efeito inibitório do extrato aquoso de alho incorporado em BDA, a partir da concentração 200 ppm tem sido demonstrado inibição de crescimento micelial sobre *C. gloeosporioides* (Ribeiro & Bedendo, 1999) e à germinação de esporos quando incubados com extrato de alho a 7,5%, ocasionando uma inibição de

78,5% (Venkataravanappa & Nargund, 2007). Outro aspecto importante é que não existe relato de qualquer efeito prejudicial do alho ao homem ou ao meio ambiente, além da preparação do extrato ser simples e não requerer equipamento sofisticado (Obagwu & Korsten, 2003). Não foram constatados estudos envolvendo o controle da antracnose com extrato de malva, mas o extrato de gengibre apresentou efeito inibitório sobre *C. gloeosporioides* em relação ao crescimento micelial (Rozwalka *et al.*, 2008). A baixa eficiência do extrato de cravo-da-Índia no controle da antracnose em pimentão contrasta com os resultados obtidos por Rozwalka (2003) no controle da antracnose em goiaba que alcançou inibição de 100% no crescimento de *C. gloeosporioides*.

Quando os extratos de alho, gengibre e malva foram aplicados em diferentes concentrações para determinação da concentração suficiente para reduzir em 75% a severidade da doença ( $CL_{75}$ ), houve diferença significativa entre os extratos (Tabela 1). O extrato de alho apresentou o maior valor de  $CL_{75}$ , indicando a necessidade da aplicação em maior concentração que os demais extratos para atingir o mesmo nível de controle. O menor valor de  $CL_{75}$  foi constatado com a aplicação de extrato de gengibre, pois aplicado na concentração de apenas 1,4% pode reduzir em 75% a severidade da doença (Tabela 1). O resultado obtido para extrato de alho assemelha-se ao constatado por Win *et al.* (2007) em relação a *C. musae* (Berk. et Curt.) Arx., pois esse extrato apresentou valores de  $DL_{50}$  superiores aos demais na inibição da germinação conidial e do crescimento micelial.

Na avaliação da estabilidade do controle propiciado pelos extratos de alho, gengibre e malva em função da concentração do inóculo de *C. gloeosporioides*, o extrato de alho apresentou a menor taxa de redução da eficiência do controle (TRE) da antracnose em frutos de pimentão com o incremento do inóculo do patógeno ( $2,0 \times 10^{-5}$  EFI unidade de inóculo<sup>-1</sup>), enquanto o extrato de malva evidenciou a maior taxa de redução da eficiência (Tabela 1). A estabilidade da eficiência do extrato de alho em função da concentração do inóculo do patógeno é um aspecto essencial no manejo da antracnose em pimentão, pois indica que esse extrato pode ser efetivo em diferentes níveis de pressão de inóculo. Além disso, o maior valor de  $CL_{75}$  associado à menor TRE indica que nem sempre o tratamento que necessita de menor quantidade de extrato irá apresentar a melhor eficiência no controle da doença em diferentes concentrações de inóculo do patógeno, como constatado em relação à podridão peduncular da banana (*Musa acuminata* L.) causada por *C. musae* (Win *et al.*, 2007).

Quando avaliada a eficiência dos extratos no controle da antracnose do pimentão causada por diferentes isolados de *C. gloeosporioides*, foi constatada interação significativa entre os tipos de extratos e os isolados do patógeno. Todos os extratos apresentaram eficiências variáveis em função do isolado do patógeno. O extrato de alho apresentou menor variação na eficiência de controle (71,8% a 94,3%), o extrato de gengibre de 48,1% a 91,1%, enquanto o extrato de malva de 6,4% a 86,0%. Quando considerado cada isolado separadamente, para a maioria dos isolados os extratos de alho e gengibre apresentaram os maiores níveis de eficiência e não diferiram significativamente entre si, enquanto o extrato de malva apresentou o menor nível de eficiência, com exceção do isolado CFM-729 (Tabela 2). As diferenças nos níveis de controle da doença induzidos por diferentes isolados, quando um mesmo extrato é aplicado, indica a possibilidade de existência de variabilidade entre os isolados do patógeno. Como na utilização de qualquer medida de controle é importante considerar a variabilidade do patógeno e a estabilidade da medida em função da variabilidade existente (Brown, 1998), a menor variação nos níveis de eficiência apresentada pelo extrato de alho em relação aos diferentes isolados de *C. gloeosporioides* é relevante, pois indica um maior potencial de estabilidade do controle sob diferentes populações do patógeno.

Não houve desenvolvimento de sintomas da antracnose nos frutos de pimentão nas temperaturas de 10, 15 e 35 °C, motivo pelo qual na comparação da eficiência dos extratos aquosos no controle da doença foram consideradas somente as temperaturas de 20, 25 e 30 °C. A interação entre as temperaturas e os extratos avaliados foi significativa. Não foram constatadas diferenças nas eficiências dos extratos de alho e gengibre quando os frutos foram armazenados às temperaturas de 20, 25 e 30 °C, se mantendo em níveis superiores a 90%, enquanto o extrato de malva apresentou a menor eficiência a 20 °C, diferindo das outras temperaturas, bem como dos demais extratos nessa temperatura (Tabela 3). Temperaturas entre 25 e 28 °C são consideradas as mais propícias para o crescimento de *C. gloeosporioides* (Vinnere, 2004; Tozze Jr. *et al.*, 2006) e indução da antracnose em frutos de solanáceas (Azevedo *et al.*, 2006; Koike *et al.*, 2006). A menor eficiência apresentada pelo extrato de malva a 20 °C pode indicar que necessita de maior

temperatura para que sua ação antimicrobiana seja ativada, enquanto os outros dois extratos são estáveis em diferentes temperaturas favoráveis para indução e desenvolvimento da doença.

No presente estudo foram selecionados os extratos brutos mais promissores para o controle da antracnose em pimentão, bem como avaliada a influência de vários fatores na estabilidade da eficiência do controle. No entanto, os metabólitos responsáveis pela supressão da doença não foram investigados.

Os resultados obtidos nesse estudo indicam o extrato de alho (6%) no controle da antracnose em pimentão, considerando sua estabilidade em diferentes situações. No entanto, conforme destacado por Silva *et al.* (2005), os extratos caseiros apresentam algumas limitações, como a falta de controle de qualidade, a baixa estabilidade dos compostos orgânicos presentes nas soluções e o não monitoramento de possíveis substâncias tóxicas presentes nas plantas ou resultantes da decomposição dos produtos durante sua manipulação. Limitações como essas fazem com que seja necessária a investigação mais aprofundada dos extratos de plantas, bem como o desenvolvimento de produtos com maior nível tecnológico, para que tanto produtores quanto consumidores possam ter segurança na utilização de extratos brutos.

## RESUMO

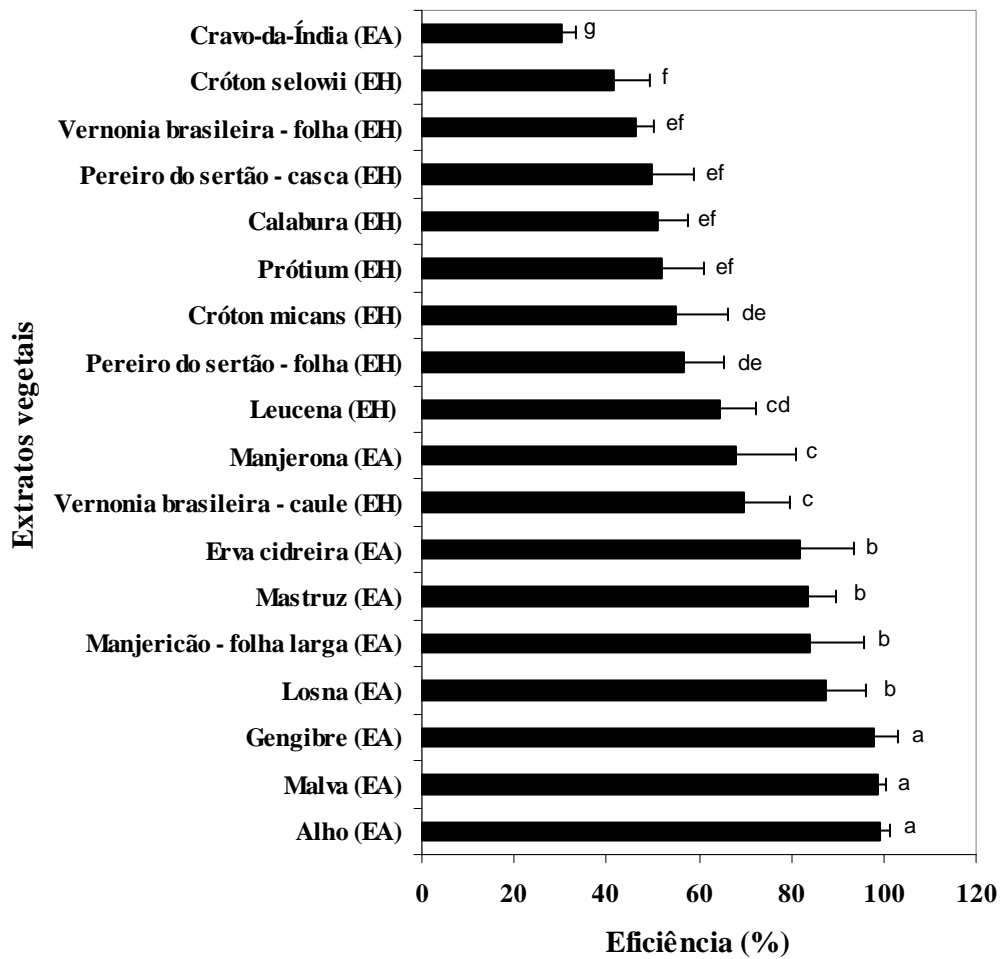
*O objetivo deste estudo foi avaliar a eficiência de extratos brutos de plantas no controle da antracnose em pimentão causada por Colletotrichum gloeosporioides, bem como analisar a estabilidade do controle dos tratamentos promissores em relação a diferentes concentrações dos extratos, concentrações do inóculo e isolados do patógeno e, temperaturas. Dentre as 16 espécies de plantas avaliadas na seleção preliminar, incluindo extratos aquosos e etanólicos, destacaram-se os extratos aquosos de alho, malva e gengibre ao propiciarem reduções superiores a 97% nos níveis de severidade da doença. O extrato de alho exigiu maior concentração para reduzir em 75% a severidade da doença (CL<sub>75</sub>) quando comparado aos extratos de gengibre e malva, mas se destacou destes ao apresentar a maior estabilidade do nível de eficiência em relação a diferentes concentrações do inóculo e isolados de C. gloeosporioides, além de manter a eficiência superior a 90% nas temperaturas entre 20 e 30 °C.*

## REFERÊNCIAS

- Azevedo, C. P.; Café Filho, A. C.; Henz, G. P.; Reis, A. (2005), Arrasadora. *Rev. Cultivar Hort. Frutas*, **34**, 18-20.
- Azevedo, C. P.; Filho, A. C. C.; Henz, G. P.; Reis, A. (2006), *Recomendações de manejo da antracnose do pimentão e das pimentas*. Embrapa Hortaliças, Brasília.
- Azevedo, C. P. (2006), Epidemiologia e controle da antracnose em *Capsicum* spp. e identificação de *Colletotrichum* spp. associados às solanáceas cultivadas. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília, Brasília, Brasil.
- Brown, J. K. M. (1998), Surveys of variation in pathogen populations and their application to disease control. In *The Epidemiology of Plant Diseases*, ed. D. G. Jones. Kluwer, Dordrecht, pp. 73-102.
- Fernandes, M. C. A.; Santos, A. S.; Ribeiro, R. L. D. (2002), Adaptação patogênica de isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* obtidos de frutos de jiloeiro, pimentão e berinjela. *Summa Phytopathol.*, **28**, 325-330.
- Koike, S. T.; Gladders, P.; Paulus, A. O. (2006), *Vegetable Diseases: a Color Handbook*. Academic Press, San Diego.
- Kurozawa, C.; Pavan, M. A.; Krause-sakate, R. (2005), Doenças das solanáceas. In *Manual de Fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas*, ed. H. Kimati; L. Amorim; A. Bergamin Filho; L. E. A. Camargo; J. A. M. Rezende. Agronômica Ceres, São Paulo, pp. 589-596.
- Lopes, C. A.; Ávila, A. C. (2003), *Doenças do Pimentão: Diagnose e Controle*. Embrapa Hortaliças, Brasília.
- Marvel, J. K. (2003), Biology and control of pepper anthracnose. PhD Thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, USA.
- Montes-Belmont, R.; Cruz-Cruz, V.; Martínez-Martínez, G.; Sandoval-García, G.; García-Licona, R.; Zilch-Domínguez, S.; Bravo-Luna, L.; Bermúdez-Torres, K.; Flores-Moctezuma, H.E.; Carvajal-Moreno, M. (2000), Propiedades antifúngicas en plantas superiores - análisis retrospectivo de investigaciones realizadas. *Rev. Mex. Fitopatol.*, **18**, 125-131.
- Obagwu, J.; Korsten, L. (2003), Control of citrus green and blue molds with garlic extracts. *Eur. J. Plant Pathol.*, **109**, 221-225.



- Park, S. K. (2005), Differential interaction between pepper genotypes and *Colletotrichum* isolates causing anthracnose. MSc Thesis, Seoul National University, Seoul, Korea.
- Pereira, M. J. Z. (2005), Reação de acessos de *Capsicum* spp. a *Colletotrichum* sp., agente causal da antracnose das solanáceas. Tese de Doutorado, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - Universidade de São Paulo, Piracicaba, Brasil.
- Prabakar, K.; Muthulakshmi, P.; Raguchander, T.; Parthiban, V. K. (2003), Effect of plant products on the mycelial growth and conidial germination of *Colletotrichum gloeosporioides* causing anthracnose disease of mango fruits. *Madras Agric. J.*, **90**, 707-710.
- Ribeiro, L. F.; Bedendo, I. P. (1999), Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. *Sci. Agric.*, **56**, 1267-1271.
- Rozwalka, L. C. (2003), Controle alternativo em frutos de antracnose em frutos de goiabeira. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
- Rozwalka, L. C.; Lima, M. L. R. Z. C.; Mio L. L. M.; Nakashima, T. (2008), Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. *Cienc. Rural*, **38**, 301-307.
- Schwan-Estrada, K. R. F. (2002), Potencial de extratos e óleos essenciais de vegetais como indutores de resistência plantas medicinais. In: Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas contra Fitopatógenos, São Pedro, São Paulo. ed., S. F. Pascholati. FEALQ, Piracicaba, pp. 27-28.
- Silva, M. B.; Rosa, M. B.; Brasileiro, B. G.; Almeida, V.; Silva, C. A. (2005), Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas. In-*Controle Alternativo de Pragas e Doenças*, ed. M. Venezon.; T. J. Paula Jr.; A. Pallini. EPAMIG/CTZM, Viçosa, pp. p. 221-246.
- Stangarlin, J. R.; Schwan-estrada, K. R. F.; Cruz, M. E. S.; Nozaki, M. H. (1999), Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. *Biotec. Ciência Desenv.*, **11**, 16-21.
- Tozze Jr., H. J.; Mello, M. B. A.; Massola JR., N. S. (2006), Caracterização morfológica e fisiológica de isolados de *Colletotrichum* sp. causadores de antracnose em solanáceas. *Summa Phytopathol.*, **32**, 71-79.
- Venkataravanappa, V.; Nargund, V. P. (2007), Fungitoxic properties of some medicinal and aromatic plants against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Ann. Plant Protec. Sci.*, **15**, 513-514.
- Vinnere, O. (2004), Approaches to species delineation in anamorphic (mitosporic) fungi: a study on two extreme cases. PhD Thesis, Uppsala Agricultural University, Uppsala, Sweden.
- Win, N. K. K.; Jitareerat, P.; Kanlayanarat, S. (2007), Effects of cinnamon extract, chitosan coating, hot water treatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit. *Postharvest Biol. Technol.*, **45**, 333-340.



**Figura 1** – Eficiência de extratos aquosos – EA (20%) e extratos hidroalcológicos – EH (1%) no controle da antracnose em frutos de pimentão (cv. Atlante). Barras indicam as médias de seis repetições e as linhas os respectivos desvios padrões (C.V. = 12,5%). Médias com a mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ( $P \leq 0,05$ ).

**Tabela 1** – Concentração dos extratos aquosos de alho, gengibre e malva suficientes para reduzir em 75% a severidade da antracnose em frutos de pimentão ( $CL_{75}$ ) e taxa de redução na eficiência do controle da doença (TRE) em função da concentração do inóculo de *Colletotrichum gloeosporioides*.

<b>Extrato</b>	<b><math>CL_{75}</math> (%)<sup>1</sup></b>	<b>TRE (EFI unidade de inóculo<sup>-1</sup>)<sup>2</sup></b>
Alho	3,5 a	0,000018 c
Gengibre	1,4 c	0,000025 b
Malva	2,1 b	0,000031 a
C.V. (%) =	11,4	13,2

<sup>1</sup>Estimada pela análise de regressão linear simples, tendo Ln (concentração do extrato) como variável independente e EFI como variável dependente.

<sup>2</sup>Estimada pelo parâmetro *b* da equação de regressão simples, tendo concentração de inóculo do patógeno como variável independente e eficiência no controle como variável dependente.

<sup>1,2</sup>Média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ( $P \leq 0,05$ ).

**Tabela 2** – Influência da isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* na eficiência do controle da antracnose do pimentão pelos extratos aquosos de alho, gengibre e malva (6%).

Isolado	Eficiência de controle (%) <sup>1</sup>		
	Alho	Gengibre	Malva
CFM-727	80,6 abcA <sup>2</sup>	79,9 aA	69,7 bB
CFM-729	94,3 aA	91,1 aA	86,0 aA
CFM-730	82,2 abcA	48,1 cB	19,9 deC
CFM-905	71,8 cA	64,6 bA	27,5 deB
CFM-1070	91,1 aA	83,6 aA	6,4 eB
CFM-1073	83,7 abcA	87,5 aA	11,2 eB
CFM-1076	83,1 abcA	84,6 aA	51,7 cB
C.V. (%) = 14,9			

<sup>1</sup> Calculada considerando a severidade da doença na testemunha (STE) e nos tratamentos com aplicação dos extratos aquosos (STR), onde  $EFI = ((STE - STR) / STE) \times 100$ .

<sup>2</sup> Média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ( $P \leq 0,05$ ).

**Tabela 3** – Influência da temperatura na eficiência do controle da antracnose do pimentão pelos extratos aquosos de alho, gengibre e malva (6%).

Temperatura	Eficiência de controle (%) <sup>1</sup>		
	Alho	Gengibre	Malva
20	94,6 aA	95,3 aA	72,0 bB
25	94,7 aA	93,0 aA	91,3 aA
30	100,0 aA	95,7 aA	96,0 aA
C.V. (%) = 10,8			

<sup>1</sup> Calculada considerando a severidade da doença na testemunha (STE) e nos tratamentos com aplicação dos extratos aquosos (STR), onde  $EFI = ((STE - STR) / STE) \times 100$ .

<sup>2</sup> Média de seis repetições. Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem significativamente entre si pelo teste de Duncan ( $P \leq 0,05$ ).

## **Conclusões Gerais**

---

---

## **CONCLUSÃO GERAL**

1. O extrato aquoso bruto de alho tem grande potencial de utilização no controle da antracnose em frutos de pimentão.