

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

FERNANDA CRISTINA SILVA DO NASCIMENTO

**ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIFÚNGICA DAS PLANTAS FRUTÍFERAS *Eugenia uniflora* L.
(Pitanga) e *Syzygium cumini* L. (Jambolão) FRENTE A ESPÉCIES DE
Fusarium spp.**

RECIFE
2023

FERNANDA CRISTINA SILVA DO NASCIMENTO

**ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIFÚNGICA DAS PLANTAS FRUTÍFERAS *Eugenia uniflora* L.
(Pitanga) e *Syzygium cumini* L. (Jambolão) FRENTE A ESPÉCIES DE
Fusarium spp.**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Norma Buarque de Gusmão

Coorientadora: Profa. Dra. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim

**RECIFE
2023**

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva
CRB4/1381

Nascimento, Fernanda Cristina Silva do.

Estudo fitoquímico e avaliação da atividade antifúngica das plantas frutíferas *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) e *Syzygium cumini* L. (Jambolão) frente espécies de *Fusarium spp.* / Fernanda Cristina Silva do Nascimento – 2023.

88 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Norma Buarque de Gusmão
Coorientadora: Elba Lúcia Cavalcanti Amorim.

Mestrado (dissertação) – Programa de Pós-Graduação em biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, 2023.

Inclui referências.

1. Substâncias bioativas. 2. Espécies frutíferas. 3. Fitopatógenos. 4. Agricultura. 5. Alternativas sustentáveis. I. Gusmão, Norma Buarque de. (Orient.). II. Amorim, Elba Lúcia Cavalcanti. (Coorient.). III. Título.

660.6

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2024-006

FERNANDA CRISTINA SILVA DO NASCIMENTO

**ESTUDO FITOQUÍMICO E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE
ANTIFÚNGICA DAS PLANTAS FRUTÍFERAS *Eugenia uniflora* L.
(Pitanga) e *Syzygium cumini* L. (Jambolão) FRENTE A ESPÉCIES DE
Fusarium spp.**

Disertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Norma Buarque de Gusmão
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Gláucia Manoella de Souza Lima
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Allan Jonathan Chernichiarro Corrêa
Universidade Maurício de Nassau

Recife, 25 de agosto de 2023.

Dedico esse trabalho a minha família que sempre me apoiou em cada momento da minha vida. Grata a Deus por tê-los comigo!
E a toda sociedade, que contribui para manter a universidade pública e o desenvolvimento de suas pesquisas.

AGRADECIMENTOS

Quero primeiramente agradecer a Deus pela vida e força que sempre me deu para ir em busca dos meus sonhos, mesmo aqueles que achei que nunca conseguiria alcançar!

A minha família, meu porto, meu lar. É difícil descrever em palavras o quanto os, amo e o quanto são importantes para mim.

A minha amada mãe, que sempre acreditou que a educação seria algo essencial em minha vida e da minha irmã. Grata a Deus pela minha irmã, que esteve em todos os momentos me apoiando fisicamente e emocionalmente, estando disposta a me ajudar no que fosse preciso para que tudo corresse bem durante o mestrado.

A meu pai, que desde a graduação se esforçou para que tivéssemos segurança, seu apoio foi extremamente importante na minha caminhada.

A minha vó Iraci, uma grande mulher, que me ensinou muito sobre como ser um ser humano de caráter e fé.

Agradeço muito a minha orientadora profa. Norma Gusmão, por todo seu apoio em cada etapa do mestrado, sempre me incentivando e demonstrando confiança nesse trabalho, uma professora extremamente competente e inteligente que tive a honra de trabalhar.

A minha coorientadora profa. Elba Amorim, uma profissional inteligente e amável, uma das pessoas com o coração mais humano que tive o prazer de conhecer. Desde o dia que a conheci senti que as coisas iriam dar certo a partir dali. Sou grata a Deus por tudo o que ela sempre fez por mim.

Agradeço imensamente a Jeniffer, por toda sua ajuda em cada etapa dessa pesquisa, muito prestativa, sua contribuição para com cada um do laboratório foi essencial, agradeço demais por me mostrar que mesmo em meio aos problemas nós podemos ter esperança e ver o lado bom de cada situação difícil.

A Kívia, que desde que cheguei no laboratório me auxiliou nos experimentos, esteve comigo em dias difíceis, grata por sua paciência em me ensinar e tirar todas as dúvidas que surgiam, agradeço por sua amizade e por me ajudar tanto.

Agradeço muito a Jorge Veras, por sua disponibilidade em nos ensinar a fazer a cromatografia e antes de tudo, por estar presente nos momentos que mais precisávamos, não apenas nos incentivando, mas dando forças, nos mostrando que seríamos capazes de realizar uma atividade.

Agradeço a Marcelino, por seu apoio e seu carisma, nos fazendo rir mesmo quando algo não dava certo, um amigo que levarei para toda vida.

A Patrícia Neri, pois sua contribuição foi essencial para compreender uma etapa muito importante da pesquisa.

Agradeço muito a Carlos Moura, o tanto que tenho aprendido com ele não cabe em um texto, sempre estando presente para ajudar a todos, nos ensinando e contribuindo de forma significativa para o andamento de várias etapas dessa pesquisa. Durante a vida, nunca havia conhecido alguém com essa capacidade de se doar de uma forma tão humana como ele.

A professora Beate e a Marcos seu orientando, por nos fornece insumos que precisávamos para realização de experimentos.

A Dona Aurora, por abrir sua casa para que estudantes sonhadoras pudessem descansar após um dia cansativo de trabalho e estudo.

Agradeço ao PPGBiotec e aos professores vinculados, aprendi muito com cada um deles, a Klayton, por sua disponibilidade e paciência com os mestrandos, sempre nos ajudando demais em cada etapa burocrática dessa jornada.

Sou imensamente grata pelo apoio de Nicole, por me dar apoio em momentos de dúvida e dificuldade. A Willyane e Júlia, por dedicarem tempo para me ajudar em uma etapa dos meus testes. A Eduardo Lacerda, o qual chamo carinhosamente de Du, sempre com sua alegria e

desespero para que as coisas da pesquisa andassem, desde a graduação sempre esbanjando o mesmo carisma e simpatia, quando nos juntamos, é certeza de momentos muito divertidos. A Leyde e Bianca, essas moças são mão pra toda obra, se tornaram amigas muito queridas que quero levar pra toda vida.

Agradeço a Sérgio, colega de turma do PPGBiotec e a Ivane, sua co-orientadora, da UFRPE, ambos foram extremamente generosos e solícitos todas as vezes que precisei de apoio e orientação. Aprendi demais com eles, principalmente sobre organização e planejamento.

A Antônio, colega de turma do PPGBiotec, sou extremamente grata por estar presente e me ajudar a passar por momentos difíceis em algumas disciplinas da pós, com sua simplicidade e carisma fazia os momentos difíceis se tornarem mais leves. A Maysa, também colega de turma do PPGBiotec, jamais esquecerei do tanto que sua orientação foi essencial pra mim, principalmente durante as disciplinas da pós. A Thiago, digo que somos filhos da mesma mãe rs, pelo fato de termos sido da mesma orientadora, sou grata demais por tudo sempre, pelas palavras de força e por sempre me incentivar durante o longo processo que foi o mestrado.

Agradeço muito ao Professor Jorge, que desde o primeiro e-mail que lhe enviei, me tratou como se já me conhecesse há anos, me orientou em seu laboratório com as análises pelo HPLC e esteve presente durante todas as etapas, um profissional de extenso conhecimento e paciência.

Agradeço a todos que de forma direta e indiretamente contribuíram para que esse trabalho fosse realizado.

Os benefícios que os seres humanos vêm recebendo das plantas, em um relacionamento bastante antigo, são muitas vezes retribuídos com derrubadas, queimadas de florestas; outras vezes, com cuidados e estudos. Somos mais dependentes das plantas do que elas de nós.

(Avancini e Favaretto, 1997)

RESUMO

O fungo fitopatogênico, *Fusarium* sp, causa doenças em culturas como: milho, feijão, cana-de-açúcar, jambo-do-Pará, manga etc, comprometendo a cadeia produtiva agrícola. O objetivo da pesquisa foi verificar a atividade antifúngica dos extratos das folhas e cascas das espécies frutíferas de uso medicinal *Syzygium cumini* (jambolão) e *Eugenia uniflora* (pitanga) frente *Fusarium oxysporum*. Foram obtidos 12 extratos vegetais pelo método de maceração utilizando os solventes hexano, acetato de etila e metanol tanto das cascas quanto das folhas de *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini*. Os extratos foram submetidos ao *Screening* fitoquímico, triagem por Cromatografia em camada delgada e doseamento. O *Screening* das folhas de *Eugenia uniflora* apresentaram terpenos, esteróides, saponinas e taninos e, para a casca, flavonoides e taninos. O *Screening* das folhas de *Syzygium cumini* (jambolão) mostrou a presença de terpenos, esteróides e taninos e as cascas apresentaram taninos. Os extratos brutos das duas espécies vegetais foram submetidos a triagem fitoquímica por cromatografia, mostram a presença de compostos fenólicos (taninos e flavonoides), naftoquinonas, triterpenos e esteróides. Os extratos foram submetidos ao doseamento para compostos fenólicos (fenóis totais, taninos, cumarinas e flavonoides). Os teores de fenóis totais, do extrato metanólicos das folhas e cascas da espécie *E. uniflora* mostram valores de 602,97mg/g \pm 5,92 e 552,45mg/g \pm 7,81, respectivamente. Para os taninos, o extrato de acetato de etila das folhas apresentou 104,29mg/g \pm 9,96. Para flavonoides o extrato acetato de etila das folhas de *E. uniflora* exibiu 435,12mg/g \pm 7,84, e os extratos hexânico das folhas e cascas mostram valores de 358,79mg/g \pm 1,63 e 358,08mg/g \pm 1,63, respectivamente. Para a espécie *S. cumini* os valores de taninos apresentado, para o extrato de acetato de etila das folhas foi de 121,69mg/g \pm 4,72. Na mesma espécie, para teores de flavonoides da folha, o extrato hexânico e acetato de etila mostram valores de 405,51mg/g \pm 8,66 e 356,14mg/g \pm 3,32, respectivamente. Para selecionar os extratos com ação frente a *F. oxysporum* foi realizado o teste de difusão em disco de papel, com os extratos na concentração de 0,010 μ g/3mL. Dos doze extratos apenas 4 apresentaram atividade antifúngica, sendo 3 de *E. uniflora*: O extrato hexânico das cascas da (\emptyset 7,02mm), o acetato de etila das cascas (\emptyset 9,11mm) e metanólico das folhas (\emptyset 8,23mm) e o extrato hexânico das folhas do *S. cumini* (\emptyset 10,69mm). Os 4 extratos foram submetidos ao teste de atividade de difusão em poço, nas seguintes concentrações 800; 600; 400 e 200mg/mL. A concentração de 200mg/mL não apresentou inibição. O extrato hexânico das folhas do jambolão apresentou atividade de 8,71mm na concentração de 800mg/mL e de 7,89mm para a concentração de 600mg/mL. O extrato hexânico da casca de pitanga não apresentou atividades nas concentrações testadas. O extrato hexânico das folhas de pitanga apresentou halos de inibição de 10,8mm, 7,44mm e 8,03mm para as concentrações de 800, 600 e 400mg/mL, respectivamente. O extrato acetato de etila da casca apresentou valores de halos de inibição de 9,7; 8,3 e 7,2mm, para as concentrações de 800, 600 e 40mg/mL, respectivamente. Mediante o exposto nos testes de atividade foi possível observar a inibição da formação de conídio de *F. oxysporum*, nos extratos hexânico das folhas do jambolão e nos extratos da folha e casca da pitanga nos extratos metanólico, hexânico e acetato de etila. Desta forma os resultados mostraram que as espécies frutíferas de uso medicinal *Syzygium cumini* e *Eugenia uniflora* estudadas são fortes candidatas para a descoberta e desenvolvimento de novas biomoléculas com ação antifúngica, dando destaque ao extrato hexânico das folhas de pitanga. Entretanto, são necessários estudos mais aprofundados para avaliar essas substâncias isolar e identificar individualmente os princípios ativos.

Palavras-chave: Substâncias bioativas; Espécies frutíferas; Fitopatógenos; Agricultura; Alternativas sustentáveis.

ABSTRACT

Phytopathogenic fungi cause diseases in various types of crops grown, in addition to compromising the agricultural production chain, among them are species of *Fusarium* sp, causing diseases in crops such as: corn, beans, sugar cane, Jambo-do-Pará, mango, between others. The objective of the research was to verify the antifungal activity of the extracts of the leaves and cascades of the medicinal fruit species *Syzygium cumini* (jambolan) and *Eugenia uniflora* (pitanga) against *Fusarium oxysporum*. Twelve plant extracts were obtained by the maceration method using the solvents hexane, ethyl acetate and methanol both from the bark and leaves of *Eugenia uniflora* and *Syzygium cumini*. The extracts were subjected to phytochemical screening, thin layer chromatography screening and dosage. The screening of the leaves of *Eugenia uniflora* showed terpenes, steroids, saponins and tannins and, for the bark, flavonoids and tannins. Screening of *Syzygium cumini* (jambolan) leaves showed the presence of terpenes, steroids and tannins and tannin-like bark. The crude extracts of the two plant species were subjected to phytochemical screening by chromatography, showing the presence of phenolic compounds (tannins and flavonoids), naphthoquinones, triterpenes and steroids. The extracts were submitted to assay for phenolic compounds (total phenols, tannins, coumarins and flavonoids). The contents of total phenols, methanolic extract of leaves and bark of the species *E. uniflora* present values of 602.97mg/g \pm 5.92 and 552.45mg/g \pm 7.81, respectively. For tannins, the ethyl acetate extract from the leaves showed 104.29mg/g \pm 9.96. For flavonoids, the ethyl acetate extract from the leaves of *E. uniflora* showed 435.12mg/g \pm 7.84, and the hexane extracts from the leaves and bark showed values of 358.79mg/g \pm 1.63 and 358.08mg/g \pm 1.63, respectively. For the *S. cumini* species, the values of tannins presented for the ethyl acetate extract of the leaves were 121.69mg/g \pm 4.72. In the same species, for leaf flavonoid contents, the hexane extract and ethyl acetate present values of 405.51mg/g \pm 8.66 and 356.14mg/g \pm 3.32, respectively. To select the extracts with action against *F. oxysporum*, the paper disk diffusion test was performed, with the extracts at a concentration of 0.010 μ g /3mL. Among the twelve extracts, only 4 showed antifungal activity, 3 of which from *E. uniflora*: The hexane extract of the bark (\varnothing 7.02mm), the ethyl acetate of the bark (\varnothing 9.11mm) and methanolic extract of the leaves (\varnothing 8.23mm) and the hexanic extract of *S. cumini* leaves (\varnothing 10.69mm). The 4 extracts were manifested to the well diffusion activity test, in the following concentrations 800; 600; 400 and 200mg/mL. The concentration of 200mg/mL showed no inhibition. The hexanic extract of jambolan leaves showed an activity of 8.71mm at a concentration of 800mg/mL and 7.89mm at a concentration of 600mg/mL. The hexanic extract of pitanga bark did not show activities in the concentrations. The hexanic extract of pitanga leaves showed halos of extension of 10.8mm, 7.44mm and 8.03mm for concentrations of 800, 600 and 400mg/mL, respectively. The ethyl acetate extract from the bark showed impulse halo values of 9.7; 8.3 and 7.2mm, for concentrations of 800, 600 and 40mg/mL, respectively. Based on what was exposed in the activity tests, it was possible to observe the inhibition of the formation of *F. oxysporum* conidia, in the hexane extracts of the jambolan leaves and in the extracts of the leaf and bark of the pitanga in the methanolic, hexane and ethyl acetate extracts. Thus, the results showed that the medicinal fruit species *Syzygium cumini* and *Eugenia uniflora* studied are strong candidates for the discovery and development of new biomolecules with antifungal action, highlighting the hexanic extract of pitanga leaves. However, further studies are needed to evaluate these substances, isolate and individually identify the active principles.

Key-words: Bioactive substances; Fruit species; Phytopathogens; Agriculture; Sustainable alternatives.

LISTA DE FIGURAS

Figura -	1	Rotas do Metabolismo Secundário de plantas	22
Figura -	2	Exemplos de Terpenos encontrados em plantas	23
Figura -	3	Estruturas básica de um Compostos Fenólicos e a estrutura da Umbeliferona	24
Figura -	4	Espécies vegetais <i>Eugenia uniflora</i> (A) e <i>Syzygium cumini</i> (B)	32
Figura -	5	Características macro e microscópica de <i>Fusarium oxysporum</i> . A) Cultivo no meio ágar dextrose batata (BDA); B) Cultivo no meio ágar farinha de milho (CMA); C) Cultivo no meio Malte (extrato de malte); D e E) cl – clamidósporos, MA – macroconídios. MF-microconídios	40
Figura -	6	Material vegetal de <i>Eugenia uniflora</i> (A) e <i>Syzygium cumini</i> (B) em processo de desidratação	44
Figura -	7	Excicatas <i>Eugenia uniflora</i> (A) e <i>Syzygium cumini</i> (B) depositadas no Herbário Geraldo Mariz UFPE	44
Figura -	8	Processo de obtenção dos extratos vegetais de diferentes polaridades	45
Figura -	9	Tubos de ensaios com os testes fitoquímicos de <i>Eugenia uniflora</i> .	54
Figura -	10	Tubos de ensaios com os testes fitoquímicos de <i>Syzygium cumini</i> .	55
Figura -	11	Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada - CCD), mostrando os compostos fenólicos da espécie <i>Eugenia uniflora</i> (pitanga) com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).	57
Figura -	12	Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada - CCD), mostrando os compostos fenólicos da espécie <i>Syzygium cumini</i> (jambolão) com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B)	59
Figura -	13	Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando as Naftoquinonas, da espécie <i>Syzygium cumini</i> (jambolão), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).	59
Figura -	14	- Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando as Naftoquinonas, da espécie <i>Eugenia uniflora</i> (pitanga), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).	60

Figura -	15	Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando os flavonoides, da espécie <i>Syzygium cumini</i> (jambolão), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).	60
Figura -	16	Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando os flavonoides, da espécie <i>Eugenia uniflora</i> (pitanga), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).	61
Figura -	17	Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando os taninos, da espécie <i>Eugenia uniflora</i> (pitanga), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).	61
Figura-	18	Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando os taninos, da espécie <i>Syzygium cumini</i> (jambolão), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).	61
Figura-	19	Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando os triterpenos e esteroides, da espécie <i>Eugenia uniflora</i> (pitanga), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).	62
Figura-	20	Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando os triterpenos e esteroides, da espécie <i>Syzygium cumini</i> (jambolão) com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).	63
Figura-	21	Halos de inibição dos extratos das plantas <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Syzygium cumini</i> frente a <i>Fusarium oxysporum</i>	67

LISTA DE TABELAS

Tabela	1	Testes fitoquímicos para a identificação das principais classes de metabólitos secundários presentes nas cascas e folhas de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Syzygium cumini</i>	46
Tabela	2	Sistema eluente, padrão e revelador para identificação de compostos fenólicos presentes nos extratos	50
Tabela	3	Rendimento dos extratos vegetais de <i>Syzygium cumini</i> e <i>Eugenia uniflora</i> após extração com os solventes hexano, Acetato de etila e metanol	53
Tabela	4	Resultados do <i>screening</i> fitoquímico de <i>Eugenia uniflora</i>	54
Tabela	5	Resultados dos <i>screenings</i> fitoquímicos de <i>Syzygium cumini</i>	55
Tabela	6	Cromatografia em Camada Delgada (CCD) para compostos fenólicos das espécies vegetais <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Syzygium cumini</i> .	63
Tabela	7	Doseamentos de fenóis totais e taninos das espécies vegetais <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Syzygium cumini</i>	66
Tabela	8	Efeito dos extratos frente ao cultivo de <i>Fusarium oxysporum</i> na formação ou não de conídios	68
Tabela	9	Halos de inibição dos extratos de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Syzygium cumini</i> frente a <i>Fusarium oxysporum</i>	69
Tabela	10	Halos de inibição dos extratos das plantas de <i>Eugenia uniflora</i> e <i>Syzygium cumini</i> frente a <i>Fusarium oxysporum</i>	70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADE	Água Destilada Esterilizada
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
BDA	Batata Ágar Dextrose
DMSO	Dimetilsulfóxido
NEU	2-Aminoetil-difenilborinato + polietilenoglicol
KOH	Hidróxido de potássio
FeCl₃	Cloreto Férrico
KOH	Hidróxido de Potássio
H₂SO₄	Ácido Sulfúrico
UFC	Unidade Formadora de Colônia
DO	Densidade Óptica
EC	Equivalente à cumarinas
EAR	Equivalente a rutina
EAT	Equivalente a ácido tânico
CFT	Conteúdo de fenóis totais
CTT	Conteúdo de taninos totais
CCT	Conteúdo de cumarinas totais
CFT	Conteúdo de flavonoides totais
DP	Desvio padrão
SDA	Sabouraud
PRONAF	Programa Nacional de Agricultura Familiar
IPA	Instituto Agrônômico de Pernambuco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
4 MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1 COLETA DE MATERIAL VEGETAL	43
4.2 PREPARAÇÃO DOS EXTRATOS E FRAÇÕES	45
4.3 SCREENING FITOQUÍMICO	46
4.4 DOSEAMENTOS DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS	48
4.4.1 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL	48
4.4.2 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE TANINOS	48
4.4.3 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE FLAVONOIDES	49
4.4.4 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO DE CUMARINAS	49
4.5 TRIAGEM FITOQUÍMICA POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)	50
4.6 CULTIVO DO FUNGO	51
4.7 SELEÇÃO DE CEPAS	51
4.8 MÉTODO DE DIFUSÃO EM ÁGAR POR POÇO	52
4.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	53

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
6 CONCLUSÕES	71
REFERÊNCIAS	72

1 INTRODUÇÃO

As plantas medicinais são conhecidas por suas propriedades curativas, sendo utilizadas como forma alternativa de tratamento de enfermidades ou ao longo dos anos, influenciando na descoberta de espécies com potencial terapêutico (BALBINOT et al., 2013; CEOLIN, T. et al., 2017). Entre suas aplicações está a área agrícola, sendo empregadas no combate de fitopatógenos que afetam diferentes tipos de culturas (MACHADO, 2019; SILVA, 2013).

As espécies vegetais *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini* estão incluídas na família *Myrtaceae*, ambas são empregadas para aplicações medicinais pela população. Em relação aos compostos oriundos do metabolismo secundário de *Eugenia uniflora* (pitanga) podemos citar a presença de alcaloides, taninos, fenóis e flavonoides, quercetina, monoterpenos, sesquiterpenos e cumarinas (AURICCHIO & BACCHI 2003; COSTA 2016; GARMUS, et al., 2019; SILVA&LIMA, 2016).

A espécie *Syzygium cumini* (jambolão) apresenta como compostos secundários taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides, fenóis, triterpenóides, miricetina, quercetina, isoquercetina e antraquinonas (CARTAXO-FURTADO, et al., 2015; MIGLIATO, et al., 2007; LEÃO, et al., 2014).

A espécie *Syzygium cumini* é utilizada pela população para tratamento de problemas estomacais, intestinais, renais, controle de diabetes, ação anti-inflamatória, tratar desintéria, problemas bucais como infecções de garganta e ulcerações aftosas, apresenta também atividade anticarcinogênica. É empregada como terapia contra leucorreia, prevenir casos de sangramentos na evacuação, atividade antioxidante, ação antimicrobiana, tratar quadros alérgicos, promove proteção do sistema cardiovascular e do fígado, combate de verminoses, casos de asma e cicatrização de úlceras (AHMED, et al., 2019; JULIE, et al., 2017; LAKSHMI, 2010; VIZZOTTO E PEREIRA, 2008).

Eugenia uniflora L. possui diversas aplicações pela população, como recurso terapêutico tratamento de diarreia, febre, hipertensão, problemas estomacais, renais, inflamação das articulações como o reumatismo, auxilia no processo de digestão, quadros clínicos como excesso de ácido úrico no organismo, reduzir o colesterol no sangue, perda de peso, ação antifúngica e antibacteriana. Além disso, frutos e cascas são empregados para uso terapêutico envolvendo problemas emocionais (BAKR, et al., 2017; BEZERRA, et al 2018; SAMY et al, 2014).

Espécies do gênero *Fusarium* sp. pertencente ao Filo *Ascomycota* são cosmopolitas e conhecidas pode causar doenças em uma diversidade de culturas como: milho, feijão, cana-de-açúcar, jambo-do-Pará, manga, entre outros, gerando muitos prejuízos e impactos negativos na área agrícola (LEITE 2017; LIRA, ET AL., 2019; RAMOS, ET AL., 2014; WALKER, ET AL., 2016).

Esse grupo de fungos pode atingir as folhas, ramos, frutos e as inflorescências da espécie vegetal, e a forma de comprometimento com os tecidos da planta se dá através dos conídios. Se caracteriza também por ser um gênero com diferenças morfológicas e fisiológicas. O solo é o habitat de espécies do gênero *Fusarium*, esses microrganismos têm a capacidade de sobreviver por muito tempo nesse tipo de ambiente. (GASPAROTTO, et al.; 2020; LAZAROTTO, 2013; LOMBARD, et al., 2019).

O uso de produtos químicos acarreta a morte de uma extensa diversidade de microrganismos que são importantes para o equilíbrio natural do solo, atingindo também os corpos hídricos. Devido a utilização em grande escala desses defensivos, alguns patógenos já têm se mostrado resistentes a vários tipos de substâncias químicas (BARROS, et al., 2019; GASPAROTTO, ET AL., 2020; MEDEIROS, et al., 2021).

Nesse contexto, vale ressaltar que a riqueza vegetal, presente na extensa biodiversidade brasileira torna a pesquisa por produtos naturais bioativos extremamente promissora para o desenvolvimento de estudos envolvendo espécies conhecidas por seu caráter medicinal contra fungos causadores de doenças em plantações, gerar respaldo científico para que pesquisas futuras sejam desenvolvidas nesse campo além de trazer mais visibilidade ao tema. A capacidade dessas espécies frutíferas de aplicação medicinal vem sendo analisada, devido às propriedades confirmadas em outros artigos relacionados ao tema.

O objetivo do trabalho foi realizar a análise fitoquímica e avaliar a atividade antifúngica dos extratos das folhas e cascas das espécies *Syzygium cumini* (jambolão) e *Eugenia uniflora* (pitanga) frente a *Fusarium oxysporum*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar análise fitoquímica e avaliar a atividade antifúngica dos extratos das folhas e cascas das espécies *Syzygium cumini* (jambolão) e *Eugenia uniflora* (pitanga) frente a *Fusarium oxysporum*.

2.2 Objetivos específicos

- Obter os extratos das folhas e cascas das espécies de *Syzygium cumini* (jambolão) e *Eugenia uniflora* (pitanga);
- Realizar o *Screening* Fitoquímico das duas espécies vegetais;
- Realizar triagem fitoquímica das espécies estudadas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD);
- Realizar o doseamento de fenóis totais, taninos, flavonóides e cumarinas dos extratos;
- Avaliar a atividade dos extratos brutos frente à *Fusarium oxysporum*

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Plantas medicinais e metabolismo secundário

Almeida (2011) acredita que as áreas médicas, etnobotânica, química e farmacêutica estão atreladas desde meados do século XIX. Além disso, ele destaca que muitos costumes africanos tiveram grande representatividade no desenvolvimento cultural no Brasil, em consequência disso, a mistura de saberes contribuiu para o conhecimento diversificado que temos até hoje sobre os diferentes usos e aplicações das plantas medicinais.

As plantas medicinais são desde longa data conhecidas pela capacidade medicinal que apresentam, sendo utilizadas ao longo dos anos pela população no geral para diversas finalidades (OLIVEIRA, et al., 2022). Muitas pesquisas foram realizadas a fim de comprovar a efetividade de uma ampla diversidade de plantas que tinham aplicação como produtos naturais por muitas comunidades e foi a partir desses estudos e a confirmação da ação benéfica de muitas espécies vegetais, foi possível realizar métodos de bioprospecção para buscar formulações tendo como alvo principal a matéria vegetal, devido à presença de uma extensa gama de

compostos bioativos conhecidos como metabólitos secundários presentes nas plantas (BALDÉ et al., 2020; MEENA, et al., 2013; URSI, et al., 2018).

Sabe-se que, as plantas produzem uma grande variedade de compostos de origem secundária, que são capazes de apresentar atividades (antioxidante, antibióticos, antifúngicos, antiparasitário, inseticida etc.), essa característica fez com que, ao longo dos anos fosse comprovado os inúmeros benefícios que tais compostos podem oferecer tanto nas áreas química, médica, agrícola e biotecnológica (GÓMEZ-SERRANILLOS, et al., 2013; BORGES E AMORIM, 2020; PIASECKA, et al., 2015).

A medicina popular tem grande importância na busca por informações acerca da bioatividade das plantas. Em um levantamento, Fanou et al., (2020) verificaram que os indivíduos entrevistados (herbanários e curandeiros) tinham mais de cinquenta anos. Esses dados revelam que de forma geral, são indivíduos mais velhos que estão mais comprometidos com o uso, indicação e disseminação do conhecimento sobre as plantas medicinais e os seus benefícios.

Conforme descrito por Marouyi (2017), na África do Sul algumas regiões utilizaram as plantas medicinais tanto para uso humano como para cuidados veterinários. O emprego desse método vem aumentando ao longo do tempo no país, isso se deve a situação socioeconômica caracterizada pela escassez de recursos financeiros e o limitado acesso aos serviços de saúde locais fazendo com que a busca por tratamentos de saúde como a medicina alternativa seja bastante comum.

Os metabólitos secundários são compostos que, auxiliam a planta ao entrar em contato com o meio ambiente, são considerados necessários para que as espécies vegetais interajam com os elementos bióticos e abióticos. São esses elementos que atuam na proteção da planta contra alguma injúria como por exemplo, defesa contra o ataque de herbívoros, além de impedirem a ação danosa de microrganismos patogênicos.

Além disso, beneficiam plantas atraindo insetos polinizadores, animais que irão auxiliar no processo de disseminação de sementes e contribuindo para a perpetuação da espécie vegetal. Apresentam grande relevância, na defesa vegetal quando há um estresse ocorrendo, ou seja, caso o ambiente onde a planta se encontra estiver passando por um processo de escassez hídrica, oscilações de temperatura, solo pobres em oxigênio e carência de minerais necessários para o seu desenvolvimento e proteção de raios ultravioleta (UV) (FARMACOGNOSIA, 2018; MEYER, 2013).

Os metabólitos estão divididos em três principais categorias, os compostos nitrogenados (alcaloides) que são reconhecidos por exibirem atividade no sistema nervoso central, por esse motivo são fontes importantes para o desenvolvimento de medicamentos. A outra categoria são os compostos fenólicos (taninos, cumarinas e flavonoides), esses que são responsáveis pela defesa da espécie vegetal contra-ataques de patógenos, além da proteção contra a radiação ultravioleta. E, por fim, os terpenos são reconhecidos por apresentarem ação antimicrobiana (CUNHA, et al., 2016; KABERA, et al., 2014).

Conforme Akula e Ravishankar (2011), as concentrações dos metabólitos não é considerada tão alta (cerca de 1%) relacionado ao peso total de massa seca, apesar disso, os benefícios oriundos desses compostos são muito significativos. Os autores mencionam que o estresse abiótico pode ser considerado um fator importante, podendo fazer com que a planta produza por exemplo, uma maior ou menor quantidade de metabólitos, visto que esses compostos estão diretamente relacionados com a defesa vegetal. Um solo carente em alguns nutrientes essenciais para o desenvolvimento e fisiologia da planta como por exemplo (enxofre, magnésio e potássio), podem desencadear uma elevação nos níveis de compostos fenólicos produzidos.

Li, et al., (2020) argumentam que a via da glicólise e do ácido chiquímico estão envolvidas na produção dos metabólitos secundários. Existem genes que atuam na regulação de processos, porém, a incidência de mudanças nos fatores ambientais pode consequentemente causar modificações na manifestação desses genes. Podemos perceber que a resposta fisiológica também está relacionada com características de caráter genético.

Gandhi e colaboradores (2015) descrevem em uma revisão que, há uma demanda considerável na busca por metabólitos secundários pela indústria química, devido a atividade comprovada desses compostos, que já são empregados como inseticidas, matéria-prima para fabricação de medicamentos e outras finalidades como na indústria alimentícia.

Porém, como são substâncias que acabam sendo produzidas em pequenas quantidades, vê-se a biotecnologia como um poderoso recurso para poder ampliar a produção e expandir a geração dessas substâncias. Uma técnica citada pelos autores é a cultura de tecidos, essa forma de cultivo é vista como promissora e vantajosa por ser considerada uma inovação biotecnológica que tende a beneficiar também o setor econômico.

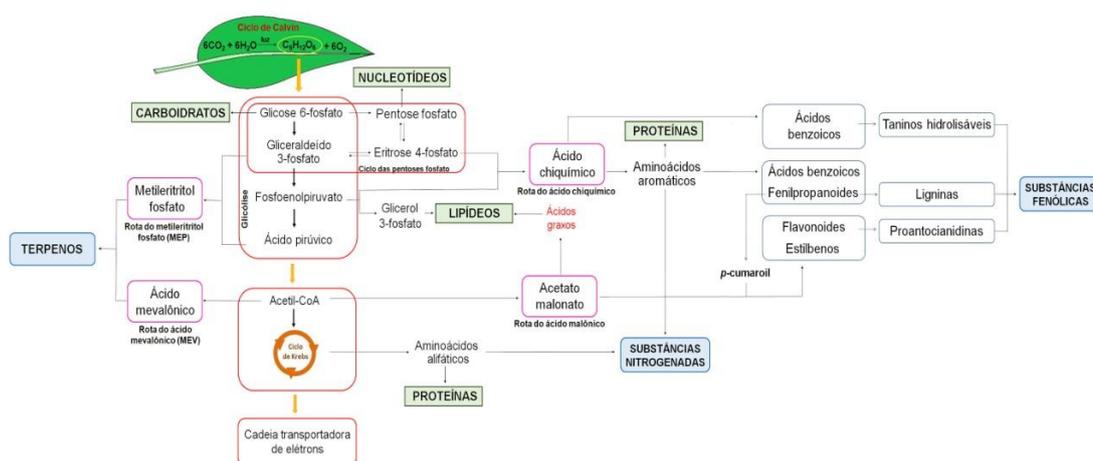
As pesquisas realizadas baseando-se na composição fitoquímica das plantas, apresentam importância nos estudos envolvendo as técnicas de extração, a caracterização do perfil fitoquímico, isolamento de compostos, bioprospecção de pesticidas, produção de

medicamentos, produtos estéticos, entre outros, além de empregar técnicas qualitativas e quantitativas para análise de tais compostos. Vale ressaltar que essas pesquisas quando realizadas compartilham o conhecimento com os setores de interesse, fica mais fácil se conhecer a demanda existente, isso facilita e orienta a busca por substâncias oriundas de produtos naturais com grandes chances de serem empregadas na produção formulações (QUÍMICA VERDE NO BRASIL: 2010-2030; SHITAN, 2016).

3.2 Biossíntese de Metabólitos Secundários

Os metabólitos secundários são produzidos a fim de oferecer proteção frente a ameaças de caráter biótico e abiótico. A síntese das diferentes classes desses produtos tem seus precursores advindos da glicólise e do ciclo de Krebs, que são vias conhecidas por fabricar os metabólitos primários, que são compostos essenciais para o desenvolvimento e sobrevivência de espécies vegetais. Há uma divisão dos metabólitos em três diferentes classes: os terpenos, os compostos nitrogenados e fenólicos. (BORGES e AMORIM, 2020; GRAÑA, et al., 2021; KABERA, et al., 2014).

Figura 1 - Rotas do Metabolismo Secundário de plantas

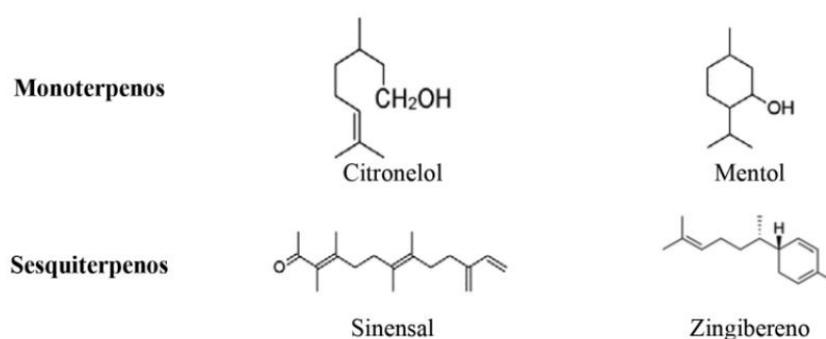


Fonte: (REZENDE, et al., 2017).

3.3 Características de cada classe de metabólitos secundários

Terpenos: são produtos que podem ter origem a partir de duas rotas (ácido mevalônico - MVA) e (metileritritolfosfato - MEP). A partir da primeira rota (MVA), é formada uma molécula conhecida como Isopentenilfosfato (IPP), na segunda rota (MEP), também é produzida a molécula Isopentenilfosfato (IPP), porém, essa pode se isomerizar e formar o Dimetialildifosfato (DMAPP). Essas moléculas vão servir como unidades base para o desenvolvimento de diferentes estruturas de terpenos como: mono, sesqui, diterpenos e triterpenos, através de diferentes processos que permitem a ligação das unidades básicas como o (IPP) E O (DMAPP). (ALLENSPACH et al., 2020; BARROS, et al., 2023).

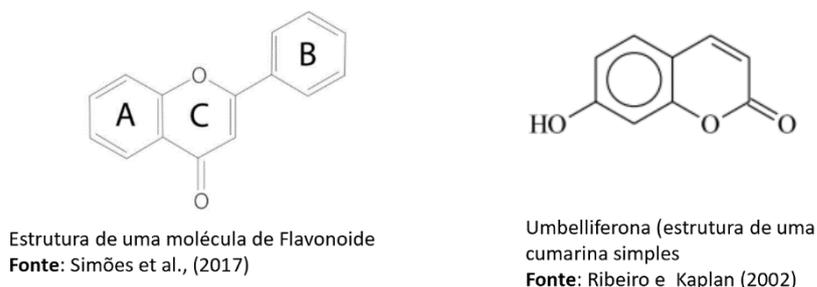
Figura 2 - Exemplos de Terpenos encontrados em plantas



Fonte: Felipe e Bicas (2016)

Compostos Fenólicos: se caracterizam quimicamente pela existência de uma hidroxila unida a um anel aromático, além de serem compostos amplamente distribuídos. São usados como um mecanismo de defesa das plantas, também são responsáveis pela coloração característica de flores e frutos, apresentam uma grande variedade de atividades biológicas quando empregadas para fins medicinais, entre elas estão ação antioxidante e inflamatória, antimicrobiana e se destacam por serem compostos moléculas simples e de baixo peso molecular (ARNOSO, et al., 2019; BRAGA e MURADOR, 2022).

Figura 3- Estruturas básica de um Compostos Fenólicos e a estrutura da umbeliferona



Compostos Nitrogenados: esses compostos são conhecidos por apresentarem o nitrogênio em sua forma estrutural, entre os elementos que estão incluídos no grupo estão: os alcaloides e os glicosídeos. Os alcaloides se caracterizam por sua capacidade de solubilizar em água, vale destacar que seus precursores são aminoácidos (ex:triptofano) e a rota onde os terpenos são produzidos também contribui para a formação de tais produtos do metabolismo secundário. Os glicosídeos cianogênicos também estão envolvidos com a defesa contra-ataques de herbívoros. Ambos são compostos oriundos do ácido chiquímico. (ARNOSO, et al., 2019; BRAGA e MURADOR, 2022; FISILOGIA VEGETAL, 4^a edição; 2009).

3.4 Importância da agricultura para o país

Já no final dos anos 90, pequenos agricultores conseguiram obter mais apoio do governo federal a partir de diversos projetos que foram criados a fim de contribuir para o desenvolvimento social dos pequenos proprietários de terras. Entre estes está o PRONAF (Programa Nacional da Agricultura Familiar), que foi considerado um dos programas que beneficiou de forma muito importante a agricultura familiar, trazendo um maior destaque para essa parcela da população (MATTEI, 2014).

Ainda em 1990, houve uma maior facilidade para que os pequenos agricultores obtivessem crédito para que pudessem aplicar em suas propriedades. Isso contribuiu para que muitos deles investissem em novas tecnologias a fim de melhorar e elevar seus lucros com a produção a partir dessas mudanças. Isso também permitiu que houvesse uma ampliação nas atividades produtivas, contribuindo para o desenvolvimento rural. (LIMA, et al., 2019; VIEIRA FILHO; 2017).

No Brasil, a estrutura agrícola começou a passar por modificações a partir de 1970, a quantidade de produtos químicos aplicados para melhoramento da safra também cresceu muito

quando comparado com os anos anteriores. O aumento populacional nos próximos anos também é considerado um fato relevante pela agropecuária, sendo assim, o país já vem se preocupando na melhoria de processos investindo em novas tecnologias, a fim de conseguir dar conta da demanda prevista. Como consequência, pretende-se obter o retorno de todo capital investido a partir da resposta do setor econômico.

A agricultura familiar também tem um papel de grande relevância nesse cenário, dados mostram que em 2017 esse setor chegou a ocupar uma extensão territorial de aproximadamente 80,9 (ha) milhões de área. O Brasil é considerado uma grande potência quando o tema é agricultura, pois possui características climáticas que favorecem o cultivo de uma ampla variedade de alimentos, além de se destacar também como exportador de grãos e outros alimentos de interesse comercial (HERRERA, et al., 2018).

O relatório de projeções do agronegócio (Embrapa) prevê que, nos próximos dez anos (2020-2030) irá ter um aumento em termos de área plantada para a soja na maioria dos estados do país. Para a produção do milho, a tendência será o incremento na produção do grão apenas para três estados (Tocantins, Mato Grosso e Mato Grosso do Sul) no mesmo intervalo de tempo. A soja e o milho estão entre os grãos e importância e destaque na economia do país para os próximos dez anos. A soja por exemplo, tem destaque como o principal grão que tem grande relevância para o país visto que é exportado intensamente para a China (BARROS, et al., 2014; NOGUEIRA, et al., 2021).

Piao, et al. (2021), revelam que, até 2050 pretende-se aumentar em 70% o que já vem sendo produzido na agricultura e em combustível, levando em consideração, ao nível mundial, o tamanho populacional que teremos nesse período, como consequência, os impactos causados ao meio ambiente também serão acentuados visto que, o gasto de água na agricultura já é considerado o mais elevado no mundo.

É um cenário preocupante, se levarmos em conta também a quantidade de reservatórios de água de qualidade que teremos disponíveis para usufruir nos próximos anos, outra questão é a necessidade de mais terras direcionadas para plantio, possivelmente será necessário o uso de mais áreas verdes para poder estabelecer esse sistema. O que nos resta de ambientes verdes já se encontra em processo de degradação pela ação antrópica, a fragmentação de habitats é um exemplo dos riscos envolvidos em ocupar e derrubar áreas florestais para fins agropecuários.

Magioli, et al., (2019) destacam também que mudanças na paisagem florestal natural podem alterar o hábito alimentar de espécies de animais que dependem desse recurso. O fato é que, não se pode apenas pensar em crescimento econômico, é essencial pensar se vale a pena

causar uma série de prejuízos ao meio ambiente, além daqueles que já realizamos todos os dias, em prol desse desenvolvimento vislumbrado (MAGIOLI, ET AL., 2019; MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2020).

De acordo com Volli et al., (2018), tanto o cerrado quanto a Mata Atlântica se enquadram como hotspots pois abrigam uma importante biodiversidade ecológica, porém, estão ameaçados pela ação humana e a atividade agropecuária está entre os fatores que vem gerando perdas e causando alterações drásticas nesses ambientes. Os autores abordam que a Bioeconomia, se baseia no uso de recursos naturais empregando estratégias sustentáveis visando o uso racional de bens e serviços ecossistêmicos é vista como um caminho para o uso mais consciente do que a natureza nos oferece.

Oliveira et al. (2021) traz um alerta sobre as consequências que o sistema agropecuário vem causando sobre espécies de animais, os pesquisadores apontam que esse setor já é responsável por danos a diversidade de espécies. Os resultados do estudo mostra que um total de 519 espécies de invertebrados a mamíferos se encontram ameaçadas, sendo afetadas negativamente pelas diferentes formas de técnicas agrícolas, contribuindo para a extinção de uma grande quantidade de animais, isso porque a retirada da cobertura vegetal natural, de árvores de grande porte tende a reduzir a oferta de alimento, a disponibilidade de habitats diminui, gerando também mudanças no clima local, visto que, as florestas ajudam a amenizar as altas temperaturas do ambiente. A situação fica ainda mais crítica quando se inicia o processo de aplicação de agrotóxicos no plantio.

3.5 Plantas medicinais na agricultura

Morais (2009) destaca que a aplicação de substâncias oriundas de plantas que apresentavam caráter medicinal era comum em meados do século XIX, sendo os resultados promissores, porém, quando se estabeleceu a Segunda Guerra Mundial muitas plantações de espécies que eram utilizadas como inseticidas naturais foram atingidas, fazendo com que os produtores agrícolas buscassem alternativas para combater microrganismos patógenos de plantas. Ainda segundo o autor, era comum o uso de compostos oriundos das espécies vegetais *Chrysanthemum cinerariaefolium*, *C. roseum* e *Chrysanthemum roseum* e *Chrysanthemum coccineum* todas pertencentes a família Asteraceae. Também eram empregadas espécies dos gêneros *Derris* spp. e *Lonchocarpus* spp. pertencentes a família Fabaceae e representantes do gênero *Nicotiana*, espécie herbácea membro da família Solanaceae utilizadas para o controle de pragas.

Já no começo do século XX ocorreu o surgimento dos produtos químicos produzidos sinteticamente que acabaram se estabelecendo como principais formas no controle de patógenos agrícolas. Porém, ao longo dos anos diversas questões relacionadas a danos na qualidade das culturas cultivadas, à saúde humana e meio ambiente começaram a aparecer a partir do uso excessivo dos agroquímicos e pesticidas (HOU, et al., 2020; ZAHOOR EMUSHTAQ, 2023).

Kotan e colaboradores (2013) e Lorenzetti, et al., (2018) confirmam que o uso de agrotóxicos e defensivos agrícolas tem causado uma série de problemas como desequilíbrio ambiental intensificado pela ação antrópica, contaminação do solo e do que está sendo cultivado, prejuízos para a saúde humana, de forma direta os agricultores.

Segundo Corrêa & Salgado (2011) ao longo dos anos, com os problemas ambientais que estão relacionados com o uso massivo dos agroquímicos, a preocupação com o desequilíbrio do meio ambiente e a procura por alimentos orgânicos e saudáveis fez com que fosse dada uma atenção maior para formas alternativas de combate a patógenos em plantações como é o caso do uso de produtos naturais oriundos de espécies botânicas que se mostram efetivas contra microrganismos patogênicos levando em consideração também as inúmeras pesquisas envolvendo o assunto que vem sendo realizadas ao longo dos anos.

Ivase et al., (2021) mencionam que, mesmo que pesquisas demonstrem a efetividade de produtos oriundos de espécies vegetais, ainda existem entraves que dificultam a adesão ao uso de pesticidas botânicos, isso também se deve ao fato de que, são normalmente utilizados por comunidades tradicionais. Além disso, outros fatores contribuem para essa desconfiança como a variação no perfil fitoquímico, visto que a mesma espécie apresenta diferenças em seu metabolismo dependendo da região em que se encontra. E por fim, a dificuldade na padronização do produto botânico final.

Oliveira et al., (2020), identificaram que 42% dos moradores entrevistados em três diferentes comunidades rurais no MT informaram que já aplicaram em suas plantações produtos à base de plantas medicinais a fim de inibir o desenvolvimento e propagação de pragas (moscas, formigas, lagartas etc.) em suas culturas.

Segundo Deepa *et al* (2021), há uma necessidade de buscar por alternativas para controlar a toxicidade produzida por *Fusarium verticillioides*, entre elas está a utilização de extratos e óleos vegetais visando o combate do microrganismo.

Sanit (2016), em uma investigação com vinte e quatro extratos brutos, observaram que o extrato etanólico de duas espécies *Syzygium aromaticum* e *Ocimum vulgare* conseguiram afetar o desenvolvimento do micélio de *Fusarium* em 100%.

Hussain, et al (2015), constataram que, os extratos de *Ocimum basilicum* e *Crotalaria juncea* exibiram atividade antifúngica bastante considerável, afetando também de forma direta o micélio de *Fusarium solani*.

Khieya et al., (2018) avaliaram a ação do extrato das folhas de 6 espécies medicinais e puderam observar que, houve efeito positivo sobre o desenvolvimento micelial de *Fusarium oxysporum*. Os autores enfatizam a relevância dos estudos nesse campo, levando em consideração as inúmeras descobertas acerca da função de diversas espécies vegetais, usadas como medicinais.

Diante desse contexto e toda a problemática que envolve a contaminação por parte dos fitopatógenos em plantações agrícolas, faz-se necessário a busca por novas alternativas sustentáveis e que causem menos danos e prejuízos tanto ao meio ambiente quanto a saúde humana, vê-se como possibilidade o uso de produtos oriundos de plantas medicinais na tentativa de controlar infecções causadas por fungos causadores de doenças em plantas.

Nikolaou et al., (2021) em uma revisão analisaram que existe uma gama bastante expressiva de espécies botânicas que, a partir de seus metabólitos secundários se mostraram capazes de combater artrópodes que causam danos a produções agrícolas.

É possível concluir que as espécies consideradas biopesticidas conseguem abrangência com relação a sua atividade, não apenas microrganismos como os fungos ou as bactérias, mas também animais invertebrados. Os autores pontuam que, a busca por conhecimento científico na área vem crescendo ao longo dos anos em diversos países do mundo.

Beg & Beg (2018) verificaram que houve atividade antifúngica contra *Fusarium lycopersici* a partir do extrato das folhas de *Syzygium cumini* com percentual de 59,21%. Entre as espécies que exibiram resultados satisfatórios com relação a capacidade de inibição de 89,56%, está a espécie pertencente à família *Myrtaceae*, o *Psidium guajava* Linn., a goiabeira, para a mesma espécie de microrganismo.

Siddique et al., (2021), observaram que, o óleo essencial de eucalipto, uma espécie que também pertence ao gênero *Myrtaceae*, exibiu efeito antifúngico com ação inibitória nas concentrações entre 2–8 µg/ml. Os ensaios foram realizados contra quatro cepas fúngicas que afetam culturas agrícolas, entre elas duas espécies de *Fusarium* (*F. oxysporum* e *F. solani*). Os autores destacam também que, os membros da família *Myrtaceae* já são conhecidos por demonstrarem atividade antimicrobiana comprovada.

Seep, et al., (2021) pontuam a importância da realização de ensaios *in vivo*, empregando extratos vegetais que apresentam atividade contra patógenos. A fim de gerar respaldo científico,

visando posteriormente, o desenvolvimento de formulações bioinseticidas. Os autores enfatizam que essa seria uma estratégia muito promissora, visto que, são considerados menos danosos ao meio ambiente e a saúde humana quando comparado com os produtos químicos biossintéticos. Ainda, de acordo com os autores, diversos pesquisadores já têm se mostrado motivados a realizar análises envolvendo matéria-prima vegetal, com o objetivo de que, posteriormente, seja possível obter biopesticidas, Isman (2020) compartilham da mesma ideia.

Porém, Campos et al., (2018) pontua que, outros aspectos como possíveis danos ao solo e a microbiota existente e avaliação de toxicidade devem ser analisados, tais questões devem ser exploradas, visto que ainda requerem de mais pesquisas e um longo caminho até que mais produtos à base de material vegetal seja disponibilizado no mercado, além dos que já existem.

Isaac & Abu-Tahon (2014) empregaram três diferentes tipos de solventes (n-butanol, etanol e acetona) além de água destilada fria e fervida como líquidos extratores. Os resultados revelaram que, todas as alíquotas do extrato com água destilada fria apresentaram atividade antifúngica contra *Fusarium oxysporum* e *Fusarium lycopersici* com valores variando entre 82,2 - 96,6 %. Dentre as cinco espécies analisadas, *Ocimum basilicum* foi a espécie vegetal que demonstrou os melhores resultados com relação a atividade antifúngica. As concentrações utilizadas para todos os solventes empregados foram de 0,5; 1,0; 1,5 e 2%. Os solventes extratores n-butanol e etanol foram capazes de afetar o crescimento de *F. oxysporum* e *F. lycopersici*.

Costa et al., (2017) obtiveram resultados satisfatórios verificando a atividade antimicrobiana empregando o extrato de *Allium sativum* (Alho) contra diferentes cepas de fungos fitopatogênicos, entre eles *Fusarium subglutinans*, esse que, revelou respostas bastante positivas nas concentrações de 40 a 50% de extrato hidroalcoólico. Os autores reforçam que, os produtos naturais são ricas fontes de compostos com capacidade para se tornarem base no desenvolvimento de formulações com atividade frente a fitopatógenos. A partir das plantas medicinais é possível obter nanopartículas que podem servir para aplicações a nível industrial, direcionadas para diferentes áreas.

Castillo-Henríquez et al., (2020) apresentam como uma alternativa promissora a química verde, principalmente, pelo fato de ser considerada de caráter sustentável.

3.6 Biopesticidas

Já se sabe que existe uma problemática, envolvendo os danos e riscos que os agroquímicos vêm causando a nível mundial, não apenas afetando à saúde da população, mas também ao ecossistema. Em 1962, houve a divulgação da obra *Primavera Silenciosa* de Rachel Carson, foi um marco na história da pesquisa envolvendo uso de pesticidas, isso porque foram expostas as problemáticas envolvendo principalmente o uso dos DDTs, evidenciando os danos que esses produtos químicos geram no meio ambiente e à saúde humana.

Nesse contexto, é importante destacar a agricultura orgânica, que se baseia na produção sem aplicações de produtos químicos de origem sintética, demonstrando ser um ramo bastante promissor e vantajoso. Porém, é importante salientar que essa forma de agricultura sofre com pragas e os produtores tendem a buscar formas alternativas para poder enfrentar o problema sem precisar recorrer aos pesticidas usados em larga escala na agricultura convencional (COSTA et al., 2018; GUIMARÃES, et al., 2021; SPLETOZER, et al., 2021; SILVA, et al., 2019; SITO, et al., 2017; TICO et al., 2022).

O Brasil se destaca como o país que mais consome agrotóxicos ao nível mundial há muitos anos, a situação traz preocupação, pois, sabe-se que o uso excessivo pode ser capaz de se acumular em quantidades elevadas nos alimentos cultivados e disponibilizados para a população. Estas substâncias, podem desenvolver problemas de saúde de ordem aguda ou crônica, dependendo do grau de exposição, não só na ingestão dos alimentos, mas como nos produtores rurais que aplicam os produtos (ANDRADE, et al., 2017; CASSAL, et al., 2014; MORAES, et al., 2016; ROSENBERGER, et al., (2020).

Conforme relatado em uma revisão por Silva et al., (2017), existem pequenos agricultores que se utilizam de formas alternativas de manejo no que diz respeito ao enfrentamento de pragas em suas plantações e os bioinseticidas produzidos a partir de plantas é bastante comum. É considerado padrão haver diferenças nas concentrações dos metabólitos secundários, dependendo de qual parte da planta está sendo utilizada.

Sabe-se que os fatores bióticos e abióticos estão envolvidos nesse contexto, e mesmo que sejam plantas da mesma espécie vegetal podem existir diferenças se forem coletadas em regiões diferentes. O interessante é que no passado acreditava-se que os produtos oriundos do metabolismo secundário não tinham valor, considerava-se que eram resíduos de processos fisiológicos da planta, porém, ao longo dos anos os estudos que foram sendo realizados

trouxeram dados relevantes, conseqüentemente, esclarecendo de fato a ação e importância de tais compostos.

Neves, et al., (2021) propõem que existe a possibilidade da produção de formulações químicas a partir de matéria-prima vegetal para enfrentar microrganismos causadores de doenças em culturas. Os autores constataram a existência de cinco produtos: Agroneem, Azact CE, Azamax, Bioexos e Fitoneem, utilizados para o controle de fungo e nematoide (*Erysiphe +polygona* e *Meloidogyne incognita*), todos obtidos da espécie *Azadirachta indica* (Nim). O princípio ativo que demonstra a atividade é oriundo de um metabólito secundário chamado Azadirachtina, presente na planta.

Xavier et al., (2018) realizaram testes com biopesticidas produzidos em hortas orgânicas de uma pequena localidade em Redenção- CE, a produção foi realizada pelos próprios moradores da região a fim de combater insetos. As preparações foram desenvolvidas com quatro espécies vegetais *Allium sativum* (alho), *Allium cepa* (cebola), *Anacardium occidentale* (castanha de caju) e *Cymbopogon nardus* (citronela).

Segundo os autores, existem benefícios à saúde humana e ao meio ambiente ao se aplicar inseticidas de origem natural em cultivos orgânicos, visto que, não é comum o uso de produtos químicos nesse tipo de plantio. Os agricultores responsáveis obtiveram resultados positivos quanto ao controle de insetos em suas hortas para as quatro espécies vegetais: *Allium sativum*, *Allium cepa*, *Anacardium occidentale* e *Cymbopogon nardus*.

Chagas et al., (2016) constataram que pequenos agricultores relataram que utilizam métodos de controle considerados sustentáveis em suas culturas orgânicas. Foram elaborados questionários com onze agricultores a fim de saber quais são as diferentes técnicas de manejo empregadas. As técnicas de manejo relatadas foram: manutenção de área verde, uso de joaninhas, fitoseídeos (ácaros), *Metarhizium anisopliae* (fungo); uso de *Trichoderma* sp (fungo); *Beauveria bassinana* (fungo); *Bacillus thuringiensis* (bactéria), extratos de plantas vegetais, calda sulfocástica e outras. Sendo a última forma de manejo foi a que mais se destacou, com 23% no total de citações, entre elas está a aplicação de substâncias de origem vegetal.

Chaudhary, et al., (2017) confirma que a espécie *Azadirachta indica*, conhecida popularmente como Nim ao longo dos anos foi se mostrando promissora no combate de microrganismos patogênicos agrícolas. Essa característica se deve à presença de compostos fitoquímicos que o Nim produz, entre eles está a azadiractina, esse composto dá a espécie vegetal um caráter inseticida.

Céspedes & Alarcon (2011) relatam que os agroquímicos utilizados nas lavouras, contra os fungos fitopatogênicos por exemplo, tem ação na formação da parede celular de quitina. Os autores defendem a busca por bioinseticidas de origem vegetal que exerça atividade similar, aos agriquímicos, visto que, as substâncias de origem vegetal tendem a não causar os mesmos impactos ambientais que os produtos sintéticos.

3.7 Atividades Biológicas de *Eugenia Uniflora* e *Syzygium cumini* (Família Myrtaceae)

De acordo com Hardstaff et al., (2022), a família Myrtaceae é um grupo que comporta mais que 6000 espécies vegetais, sendo considerada bastante diversa. Os autores destacam que algumas espécies já se encontram em processo de extinção tanto no Brasil como em outros países, devido a vários fatores bióticos e abióticos. E que, em detrimento desse fato, é importante que medidas de conservação sejam realizadas, como por exemplo, a criobiotecnologia a fim de mitigar os efeitos negativos sobre esse grupo de plantas.

Figura 4 - Espécies vegetais *Eugenia uniflora* (A) e *Syzygium cumini* (B)



Fonte: (A) Yanna Dantas Rattmann (2015) e (B) Diones Joel Kniecik (2019)

Pratiwi & Nurlaeni (2021) realizaram uma triagem direcionada para descrever e catalogar espécies da família Myrtaceae que se mostram promissoras para se tornarem bioinseticidas naturais. A partir dos dados obtidos, os autores fizeram um compilado de membros desse grupo que existiam no Jardim Botânico Cibodas (Cianjur-Indonésia).

Entre os seis gêneros que já tinham sido descritos potenciais produtores de bioinseticida, entre as espécies estão a *Syzygium cumini* (jambolão), com um total de 13 espécies, apresentando substâncias com ação bactericida, herbicida, inseticida e fungicida e *Eugenia uniflora* (pitanga) com ação fungicida, bactericida e inseticida.

Besufekad, et al., (2017), ao analisarem a espécie *Myrtus communis*, representante do gênero Myrtaceae verificaram que, o extrato clorofórmico apresenta melhores resultados foram obtidos com relação a zona de inibição do óleo essencial com diâmetro médio de 15,16 mm.

Antonelo et al., (2023) destacam que, espécies da família Myrtaceae são promissoras por suas propriedades, especialmente os óleos essenciais. Dentre elas, os autores mencionam sobre as atividades promissoras de *Eugenia uniflora*. Na pesquisa, os mesmos destacam que dados mostram a capacidade antifúngica de *E. uniflora* frente a microrganismos que causam prejuízos na área agrícola, como é o caso do fungo *Thielaviopsis basicola*, um fitopatógeno que causa podridão de raízes.

Lazzarotto-Figueiró, et al (2021) avaliaram que os extratos das sementes de *Eugenia uniflora* demonstraram ação contra *Escherichia coli*; *Pseudomonas aeruginosa*; *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhimurium*. O extrato etanólico apresentou resultados superiores quando comparado com o extrato de acetato de etila. No mesmo trabalho os autores notaram que houve efeito antioxidante dos extratos da espécie vegetal.

Entre as análises realizadas por Falcão et al (2018) foi investigada a atividade antimicrobiana do extrato bruto de *Eugenia uniflora* contra *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus* (espécie que apresenta resistência ao antibiótico Meticilina). *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os resultados mostraram que, os extratos exibiram efeito antibacteriano, com exceção das espécies *S. aureus* (resistente a Meticilina) a uma concentração de 2,5 µg/mL e não demonstrou ação contra a espécie gram-negativa *E. coli*.

Santos et al (2013) analisaram a atividade do extrato das folhas de *Eugenia uniflora* contra três espécies fúngicas, *Candida krusei*, *C. tropicalis* e *C. albicans*. Nos testes, foram combinados os extratos com antifúngicos sintéticos comerciais, numa mistura homogênea para verificar o efeito sinérgico e foram analisadas as concentrações inibitórias mínimas e as concentrações usadas foram 1024-0,51 µg/mL. Os resultados evidenciaram que, o efeito inibitório foi observado apenas com a associação de metronidazol e o extrato vegetal, contra *Candida tropicalis*.

Gowri, et al (2010) verificaram a atividade antimicrobiana (extratos aquosos e metanólicos) das folhas de *Syzygium cumini* contra duas bactérias Gram-negativas e seis Gram-positivas. De acordo com os autores, ambos os extratos foram capazes de inibir os microrganismos, porém, o extrato metanólico apresentou resultados mais satisfatórios, com diâmetros de 6 a 22mm quando foi empregada uma concentração de 100µl.

A partir de um estudo no qual se tinha como propósito a obtenção de nanopartículas de prata (AgNPs). Para isso, o experimento consistiu na junção das nanopartículas com o extrato de *S. cumini*, Mittal, et al (2019) verificaram que as nanopartículas de prata produzidas apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, porém, a ação foi mais evidente em *S. aureus*. Ainda segundo os autores, esses resultados podem ter relação com dados que a literatura já mostra que, as AgNPs tendem a interagir com a camada de peptidoglicano das bactérias.

Prasad & Swamy (2013) observaram que o extrato da casca de *Syzygium cumini*, obtidos a partir da mistura do extrato com as AgNPs, foram capazes de inibir de forma mais significativa *Bacillus licheniformes*, uma rizobactéria, dentre as espécies de bactérias analisadas. Esse resultado pôde ser verificado utilizando desde a menor até a maior concentração do extrato (2 µl - 100 µl).

A atividade contra fitopatógenos empregando *Eugenia uniflora* foi apresentada através da revisão bibliográfica realizada por Silveira et al., (2021) que em uma constataram a ação antifúngica, antibacteriana e inseticida dos óleos essenciais de espécies do gênero *Eugenia*. Os mesmos autores consideram importante e sugerem que mais pesquisas sejam feitas levando em consideração a composição fitoquímica das espécies vegetais presentes no grupo.

Mazaro, et al., (2008) confirmam que o óleo essencial de *Eugenia uniflora* provocou um processo de indução de metabólitos secundários conhecidos como fitoalexinas, esses que por sua vez, atuam na defesa contra patógenos. De acordo com resultados encontrados por Siega (2018), a atividade antifúngica do óleo essencial de *Eugenia uniflora* está associada com os compostos fitoquímicos presentes nesse óleo.

Em uma revisão bibliográfica Costa et al., (2020) reforçam a capacidade antifúngica e antimicrobiana que apresentam as espécies dos gêneros *Eugenia* e *Syzygium*. Diversas pesquisas têm confirmado o efeito positivo de extrato e óleo essencial de uma ampla gama de plantas medicinais no combate de fitopatógenos fúngicos.

O Prakash, et al (2014) observaram que, os frutos de *Syzygium cumini* foram capazes de evidenciar capacidade antifúngica frente a três espécies de fungos que atingem plantações, entre eles *Fusarium oxysporum*.

Baka et al., (2016) observaram que, o extrato etanólico de *Syzygium cumini* (*Eugenia jambolana*) evidenciaram um efeito mais positivo contra a cepa de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*, quando comparado com o extrato aquoso. Isso pode ser devido à natureza dos solventes, visto que, a composição química de ambos, são distintas, o que possivelmente influenciou no arraste dos metabólitos presentes no material vegetal de forma diferenciada.

Monaim et al., (2011) obtiveram resultados bastante positivos com relação a ação antifúngica dos extratos de *Syzygium cumini* sobre *Fusarium oxysporum*. *S. cumini* estava entre as espécies vegetais analisadas no estudo, dados revelam que no extrato hidroalcoólico das folhas e frutos da planta além de inibir do fungo, foi possível verificar que contribuiu para diminuir a queda das plântulas e a murcha vascular fornecendo melhores condições para a sobrevivência de *Lupinus termis*, uma leguminosa.

Os autores, também, constataram que, sementes tratadas com extrato de éter e butanol de *S. cumini* exibiram atividade positiva pelo fato de diminuir o desenvolvimento de danos causados por *Fusarium oxysporum*, além de favorecer o crescimento de *L. termis*.

3.8 Levantamento etnobotânico

A partir do levantamento etnobotânico é possível selecionar quais a espécies vegetais podem ser adicionadas a pesquisa, baseando-se em estudos anteriores com as mesmas plantas que demonstrem a atividade desejada, levantamento que, de forma geral, direciona a parte metodológica acerca de quais alvos com relação a espécie vegetal será utilizada, dando prioridade para os compostos fitoquímicos presentes na mesma.

Segundo Vásquez, et al., (2014) esse tipo de pesquisa permite conhecer quais são os usos comuns que a população faz das espécies que apresentam bioatividade medicinal. Ambas as espécies frutíferas que foram analisadas nesta pesquisa já têm sido referidas em pesquisas anteriores como promissoras, com ação contra fungos causadores de doenças em culturas. Dessa forma, deve-se considerar que, há diferenças como região de cultivo da espécie vegetal analisada, bem como peculiaridades de clima e condições ecológicas da região das coletas podem conferir diferentes propriedades às plantas medicinais, serão válidas as análises e agregarão dados importantes às aplicações frente aos agentes fitopatogênicos.

Segundo Sganzerla et al., (2022), de forma geral, o estudo etnobotânico encurta o caminho para que pesquisas envolvendo a bioprospecção sejam realizadas. Além disso, esse tipo de estudo contribui para que o uso cultural das plantas medicinais por exemplo, seja mantido, valorizado e reconhecido como uma tradição que perdura até os dias atuais, pois, o conhecimento foi sendo transferido ao longo das gerações.

Existe um longo caminho entre o conceito “Da planta ao produto acabado”, nesse contexto, o estudo etnobotânico entra como um aporte essencial visto que, nos leva de encontro com o alvo e propósito que determina a pesquisa científica. Seja essa busca voltada para analisar

a atividade de compostos bioativos para finalidade de bioprospecção nas áreas, farmacêutica, química, ambiental, entre outras.

Em um levantamento etnobotânico que Santana et al., (2016) realizaram em uma região de Mata Atlântica com uma população quilombola, a partir dos resultados os pesquisadores observaram que a espécie *Eugenia uniflora* (*Myrtaceae*) por exemplo, estava entre as três plantas que exibiram um RF (Índice de Frequência Relativa) mais elevado. Sendo considerada uma das espécies medicinais mais relevantes para fins curativos entre as mais citadas pelos usuários.

Silva et al., (2021) destacam que, a grande maioria dos medicamentos ou substâncias a base de matéria-prima vegetal foram descobertas e desenvolvidas a partir de pesquisas envolvendo a etnobotânica. Esse foi um ponto extremamente importante no que se refere ao que se conhece acerca dos produtos oriundos de espécies vegetais para diferentes finalidades. Os autores destacam também que, o número de pesquisas relacionadas ao tema tem sido bastante significativo levando o Brasil para o segundo país a nível mundial, que mais realiza publicações sobre esse tópico, isso também se deve ao fato de que o Brasil tem uma extensa diversidade de espécies botânicas em nossa flora.

Vale ressaltar que, estudos etnobotânicos não focam apenas em descobrir para qual finalidade uma espécie medicinal serve, para quais enfermidades é utilizada, envolve também as pequenas e grandes comunidades, as populações de determinada localidade, e figuras importantes que, de forma geral são os que detêm grande parte da sabedoria acerca do uso e aplicação das plantas medicinais (LANZA, et al., 2020; SGANZERLA, et al., 2021; MAGALHÃES, et al., 2022).

Calbazar et al., (2017) mencionam que, pesquisas envolvendo o contato direto entre o pesquisador seja com comunidades tradicionais, indígenas ou aqueles que empregam as plantas medicinais para finalidade religiosa ou curativas, dependendo da estrutura metodológica de trabalho que será realizada, devem levar em consideração não apenas os interesses dos estudiosos que estão em busca de informações, mas precisam antes de tudo, deixar claro acerca do que se trata a pesquisa para aqueles que serão o objeto de estudo, os detentores do conhecimento sobre o assunto tratado.

Lin et al., (2021), constataram que na China por exemplo, o uso de plantas medicinais é muito considerado até os dias atuais. Cerca de 11.146 mil espécies vegetais são empregadas para fins curativos. Outro aspecto que os autores chamam a atenção é a ameaça um número

considerável de espécies silvestres que, devido a fatores ambientais e atividades humanas como a colheita em demasia, têm se tornado um desafio a ser enfrentado na localidade analisada.

De acordo com Zank & Hanazaki (2017), em um estudo sobre plantas medicinais em duas regiões do Brasil, notaram que quanto maior era o desenvolvimento de uma localidade, menos recursos de origem natural, como é o caso do uso de plantas medicinais eram utilizados pela população. Esse fato de certa forma é considerado um ponto negativo no que se refere a manutenção dos saberes tradicionais, conforme as características das áreas analisadas.

Mbunde et al., (2016) conseguiram obter informações de representantes com conhecimento acumulado sobre espécies medicinais que demonstravam atividade antifúngica, o que orientou os pesquisadores no objetivo da pesquisa. Um outro tópico importante citado pelos autores é com relação ao uso mais comum das folhas ao invés de outras partes da planta. Esse tende a ser algo de grande relevância, pois, de forma geral as folhas são recursos renováveis e dessa forma, muitas espécies medicinais que já se encontram ameaçadas por diversos fatores antrópicos e ambientais tendem a sofrer menos danos caso sejam utilizadas de forma racional pela população para fins terapêuticos ou de outra ordem. Esta pesquisa foi desenvolvida inicialmente sendo baseada em uma abordagem etnobotânica quimiotaxonômica, pelo fato de envolver análises de pesquisas apenas com espécies presentes no mesmo grupo (gênero ou família).

3.9 Fitopatologia

A fitopatologia é uma ciência que engloba o estudo da interação entre plantas e patógenos, sob diferentes aspectos levando em consideração a influência do meio ambiente. O estudo da fitopatologia investiga quais os métodos viáveis e mais promissores para realizar o controle de patógenos, buscando entender como as plantas respondem fisiologicamente a ação dos diferentes tipos de microrganismos patogênicos. É a partir dos sintomas apresentados pelas espécies vegetais que se busca identificar quais os sinais existentes a fim de conhecer os possíveis agentes biológicos que podem estar envolvidos na causa da doença (CARROLLO & SANTOS FILHO, 2016).

Desde o velho testamento que já se tinha informações sobre as doenças que afetam plantas nas próprias escrituras. Theophrastus (300 a. c) mencionava naquela época sobre o tema de forma geral, sem grandes especificações. Houve um período conhecido como místico durante o estabelecimento da fitopatologia como ciência, nessa fase, produtores de cultivos que eram acometidos com pragas agrícolas acreditavam que o ocorrido era decorrente de algum

castigo superior, na época não existiam informações sobre doenças causadas por fungos, bactérias, vírus, entre outros fatores ambientais, que eram o que normalmente causavam danos à produção.

A tentativa de controle das doenças causadas por patógenos já teriam sido iniciadas por Homero (1000 a. c) com aplicação de enxofre em culturas e por Demócrito (470 a. c), empregando borra que sobrava da extração do azeite em cultivos. O nascimento da ciência conhecida como Fitopatologia ocorreu quando houve um grande desastre causado pelo oomiceto *Phytophthora infestans*, provocando a requeima da batata em 1845. Esse fato causou um grande problema visto que a batata fazia parte da dieta de grande parte da população europeia.

De Bary, é conhecido como o Pai da Fitopatologia, pelo fato de ter decifrado e demonstrado que *Phytophthora infestans* seria o causador da requeima da batata. De forma geral, as doenças que atingem as plantas podem se originar a partir de fatores bióticos (ação de organismos) ou abióticos (escassez hídrica, solos pobres em nutrientes etc.). Porém, aqui o destaque vai para os fungos causadores de injúrias e que interferem no funcionamento normal de plantas de importância agrícola (MANUAL DE FITOPATOLOGIA, 1995; MICHEREFF, 2001).

Os fungos fitopatogênicos causam doenças em diversos tipos de cultivos, além de comprometerem a cadeia produtiva agrícola, se tornaram ao longo dos anos um grande desafio para os agricultores. As doenças que afetam as produções agrícolas tendem a causar perdas econômicas consideráveis, dependendo do grau de infecção das espécies hospedeiras. À medida que os patógenos avançam nas culturas agrícolas, menor quantidade de produtos são disponibilizados aos consumidores, além disso, verifica-se a qualidade inferior do produto (MICHEREFF, 2001).

Além disso, a presença dos fungos fitopatogênicos causam perdas econômicas e impacto social afetando de forma negativa, principalmente, aos pequenos agricultores, que tem a agricultura familiar como principal fonte de renda.

3.10 Gênero *Fusarium* sp.

- **Domínio:** Eukaryota
- **Reino:** Fungos
- **Filo:** Ascomycota

- **Classe:** Ascomycetes
- **Subclasse:** Sordariomycetidae
- **Ordem:** Hypocreales
- **Família:** Nectriaceae
- **Gênero:** *Fusarium*

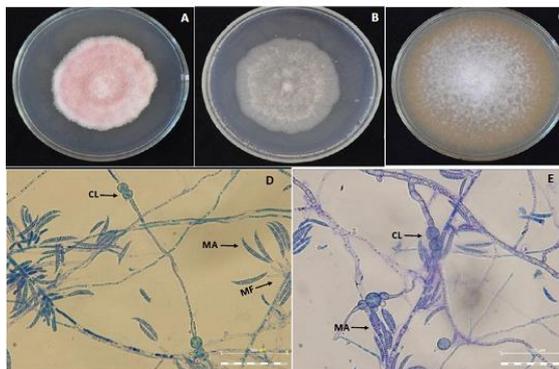
É um gênero cosmopolita, ou seja, encontra-se amplamente distribuído em todos os ecossistemas. Pode estar presente no solo, na água, em certas condições ambientais pode ocorrer de algumas espécies desse gênero se modificarem em estruturas conhecidas como clamidósporos, que se caracteriza por ser um estágio de dormência.

Espécies desse gênero também podem estar associados a raízes de diferentes espécies vegetais, além disso, são capazes de afetar partes do vegetal, como folhas, sementes e até os frutos de seus hospedeiros. Isso é um fato preocupante, levando em consideração que é um gênero capaz de contaminar uma grande variedade de espécies vegetais, entre elas, algumas de interesse agrícola, como o caso de alguns grãos. A temperatura que esse grupo tolera fica entre 25-30 °C, porém, há espécies que conseguem sobreviver em temperaturas mais elevadas, girando em torno de 35-37°. (OLIVEIRA, et al., 2022; SAMIE e MASHAU, 2019).

O padrão de distribuição, o grau de infecção e o número de espécies de *Fusarium*, todos esses fatores mudam dependendo da região na qual alguns membros desse grupo se encontram. *Fusarium* tem variabilidade genética, dados revelam que, há aproximadamente 300 espécies descritas atualmente. Entre os diversos gêneros de fitopatógenos que vem causando grandes perdas na agricultura, *Fusarium* tem grande evidência, isso se deve também ao grau de contaminação associado.

Duas espécies presentes no gênero (*Fusarium oxysporum* e *F. graminearum*) estão entre os fungos que têm grande destaque, pois promovem estragos severos a culturas, tendo influência negativa direta na economia. (MARYANI, ET AL., 2019; HERKERT, ET AL., 2019; LJ MA, 2013).

Figura 5 - Características macro e microscópica de *Fusarium oxysporum*. A) Cultivo no meio ágar dextrose batata (BDA); B) Cultivo no meio ágar farinha de milho (CMA); C) Cultivo no meio Malte (extrato de malte); D e E) cl – clamidósporos, MA – macroconídios. MF- microconídios



Fonte: TEIXEIRA et al., 2017

Segundo Walker, et al., (2014) existem cerca de 20 espécies catalogadas e inseridas em um complexo denominado *Gibberella fujikuroi*. O aspecto da espécie afetada por esse fungo é a murcha das folhagens da planta, além disso apresenta uma tonalidade amarelada, e posteriormente a cor do tecido da espécie vegetal acometida se modifica para uma aparência amarronzada.

De acordo com Gordon (2017), *F. oxysporum* encontra-se presente em matéria orgânica morta, raízes de plantas e solos nativos. Diferentemente do que acontece com espécies vegetais cultivadas para as plantas nativas *F. oxysporum* não é patogênico. Os autores pontuam que com a inserção de técnicas ligadas à agricultura, a propagação do fungo se tornou mais evidente.

Ramos et al., (2014) enfatizam que os prejuízos causados pela contaminação causada por *Fusarium* em sementes de milho tem influência negativa na economia, visto que o produto tem grande importância comercial para o país.

Martínez, et al., (2019), observaram que, no cultivo do trigo, quando espécies de *Fusarium*, contaminam esse tipo de grão, podem diminuir a qualidade do produto, além de diminuir a oferta do que seguiria para o comércio, gerando prejuízo financeiro. Existe uma outra questão que é a produção e liberação de toxinas por membros do grupo *Fusarium*, isso torna a situação ainda mais preocupante visto que, a saúde humana tende a ser afetada caso venha a ingerir alimentos com a presença de micotoxinas.

No estudo de Gomes et al., (2020) foi verificado a partir da metodologia utilizada, que para diferentes espécies de *Fusarium*, houve uma elevada taxa de desenvolvimento do micélio

e a formação de conídios a uma temperatura entre 25 °C e 35 °C. Os autores destacam que, as características climáticas de regiões mais quentes tendem a facilitar a propagação do fungo em plantações de abacaxi, a contaminação dos cultivos tem gerado prejuízos à saúde humana.

De acordo com Hassan et al., (2016), as espécies do gênero *Fusarium* podem provocar infecção ocular em humanos como a ceratite, uma inflamação que atinge a córnea e os mais afetados são os agricultores rurais que lidam de forma direta e rotineira com plantações agrícolas.

León Duran & Cárdenas (2020) analisaram a atividade antifúngica de *Caesalpinia spinosa* contra *Fusarium graminearum* e os resultados mostraram que, o extrato aquoso por aquecimento a 60 °C foi o que se mostrou mais ativo contra o fungo, além de ter sido encontrado uma concentração de compostos fenólicos mais elevado quando comparado com os outros extratos da mesma espécie vegetal. Kavitha e Satish (2016) utilizaram o ensaio de difusão em poço de ágar, com uma concentração de extrato de 100 µg/mL de uma espécie vegetal *Vitex negro* (família Verbenaceae), entre as que foram investigadas. Os autores observaram que houve atividade antifúngica bastante considerável contra *F. verticillioides* (42,33±0,57), quando empregado o solvente metanol.

Gakuubi et al., (2017) pontuam que, espécies do gênero Myrtaceae tendem a apresentar em sua composição, metabólitos que resultam em diferentes tipos de atividades benéficas no que se refere ao emprego de espécies desse grupo, essa característica se deve a presença de compostos oriundos do seu metabolismo secundário. Os autores realizaram ensaio com o óleo de *Eucalyptus camaldulensis* Dehn., que faz parte da mesma família citada.

Beg & Beg (2018) observaram que o extrato bruto de uma espécie presente na família Myrtaceae (*Psidium guajava*), exibiu ação inibitória do fungo *Fusarium licopersicia*, impedindo o seu crescimento, chegando a valores de 89,56%. Ao passo que *Syzygium cumini* mostrou uma inibição de 59,21% nas mesmas condições experimentais.

Sampaio et al. (2016), confirmam os resultados favoráveis, dessa vez com a aplicação do óleo da espécie medicinal *Myrcia ovata*, que faz parte da família Myrtaceae. De acordo com os autores, verificou-se que, ocorreu uma atividade considerável no combate de *Fusarium solani* nas frações de 0,5, 10,0 e 30,0 -L mL⁻¹. Os autores destacam também que, espécies da família Myrtaceae já vem sendo estudadas ao longo dos anos devido às suas características benéficas como antibacterianas e antifúngicas.

Esses resultados evidenciam que, estudos com espécies desse grupo podem ser promissores nesse contexto, além disso, esses dados revelam que, pesquisas voltadas para

bioprospecção de produtos à base de espécies vegetais podem contribuir para a confirmação da ação e desenvolvimento de produtos à base de matéria prima natural, com possibilidade de serem lançados no mercado de compostos capazes de controlar patógenos agrícolas.

Dhaouadi et al., (2018) observaram que, o óleo essencial de duas espécies da família Lamiaceae (lavanda e manjerona), tiveram uma atividade inibitória muito expressiva no desenvolvimento do micélio de *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani*. Além disso, os autores detectaram que, os óleos essenciais na concentração de 2,5 µl para cada planta, foi suficiente para afetar e impedir que ocorresse a germinação dos esporos fúngicos.

Khandare e Vasait (2017) analisaram diferentes espécies vegetais, eles destacam a importância de se buscar por formas menos danosas de produtos com finalidade inseticidas e pesticidas, visando diminuir os efeitos negativos ao meio ambiente e a saúde humana. Os autores conseguiram verificar que, o extrato etanólico e aquoso das sementes de *Syzygium cumini* exibiram ação antifúngica contra *Fusarium oxysporum*. As concentrações dos dois tipos de extratos variam de 10 a 100%.

Zaker (2014) obteve os resultados bastante promissores com relação a atividade dos extratos vegetais frente a *Fusarium solani*, com o uso do solvente metanol, foi possível obter melhores resultados do que com o uso do extrato aquoso.

Em um trabalho de revisão, Bertero et al., (2018) destacam a importância de se avaliar os danos que as micotoxinas produzidas por espécies do gênero *Fusarium* podem causar aos alimentos cultivados, causando contaminação. Outro aspecto destacado é a sugestão para que pesquisas envolvendo a exposição prolongada às micotoxinas sejam desenvolvidas a fim de conhecer os riscos à saúde humana e animal envolvidos.

Rampersad (2021) destaca que existem dificuldades com relação a realização de um método de manejo adequado visando o controle de *Fusarium*, ressalta também que esse fato se agrava ainda mais quando já está estabelecido um estado de contaminação por micotoxinas. O transporte de grãos por exemplo, já é considerada uma causa da inserção de espécies de fungos patogênicos de um local para outro.

De acordo com Aparecido e Rosa (2019), as micotoxinas produzidas por espécies de *Fusarium* podem ser consumidas por humanos e animais, a medida há a contaminação de grãos por essas substâncias.

3.11 *Fusarium oxysporum*

A espécie *Fusarium oxysporum* se caracteriza por penetrar nas raízes de suas hospedeiras, se disseminando pelo xilema. Dentre as manifestações da infecção, pode-se observar a existência de descoloração das folhas e estrutura da planta, atraso no desenvolvimento, podendo causar até a morte. *F. oxysporum* pode permanecer por um longo período no solo, formando clamidosporos, que são estruturas que conseguem se manter por longos períodos em dormência, até que as condições ideais do ambiente sejam estabelecidas (HENRIQUE et al., 2015).

Fusarium oxysporum está inserido em um complexo de espécies conhecido como *FOC*, se caracterizam por serem fungos tanto patogênicos quanto não patogênicos. Quando contaminam as plantas a espécie tende a causar inicialmente a penetração através das raízes, atingindo especificamente a zona epidérmica. Em seguida, o microrganismo alcança o xilema e vai causando uma degradação na planta a nível fisiológico, assim, o sistema vascular da espécie vegetal é afetado, à medida que ocorre o desenvolvimento da doença a planta vai apresentando vários sinais que caracterizam a infecção por *F. oxysporum* (LOPES E MICHEREFF, 2018).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Coleta de material vegetal

A coleta das espécies vegetais foi realizada em um pequeno fragmento vegetal localizado em Moreno-PE (Latitude: 8° 7' 4" Sul, Longitude: 35° 5' 35" Oeste), região metropolitana do Recife em novembro de 2021, estação da primavera e horário da manhã. O material foi levado para o laboratório de produtos naturais (LAPRONAT – UFPE) para a etapa de secagem a temperatura ambiente entre 15 e 20 dias. Posteriormente, foi realizada uma seleção para retirada dos fragmentos e folhas danificadas e procedeu-se a trituração do material vegetal (folhas e cascas) das duas plantas frutíferas.

Figura 6 – Material vegetal de *Eugenia uniflora* (A) e *Syzygium cumini* (B) em processo de desidratação



Fonte: autor.

Três exemplares de cada espécie foram selecionados e realizado o depósito dos mesmos no Herbário Geraldo Mariz, localizado no Departamento de Botânica, Centro de Biociências (CB), da Universidade Federal de Pernambuco/UFPE sob o número de depósito 88.485 (pitanga) e 88.819 (jambolão), figura 4. A pesquisa será cadastrada no (SisGen) Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado pois serão utilizadas da biodiversidade brasileira duas espécies vegetais frutíferas de uso medicinal.

Figura 7 - Exsicatas *Eugenia uniflora* (A) e *Syzygium cumini* (B) depositadas no Herbario Geraldo Mariz UFPE



Fonte: João Amazonas

4.2 Preparação dos extratos e frações

O material passou por processo de trituração em moinho de facas tipo Willey (Adamo 340) a padronização do diâmetro do material triturado foi obtida com o auxílio de tamises, alcançando granulometria de 20 Mesh (1,2 mm). O material vegetal em pó foi armazenado em sacos de papel separadamente e rotulado com etiqueta de identificação. Para a maceração foram empregados três diferentes solventes sucessivamente: hexano, acetato de etila e metanol, levando em consideração a polaridade para retirada dos metabólitos secundários de cada parte das plantas, sendo esse processo feito de forma fracionada.

Foram feitas três macerações sendo cada uma realizada por um período de 48 horas para as cascas e folhas tanto para *Eugenia uniflora* quanto para *Syzygium cumini*, com cada um dos solventes citados.

A filtração foi realizada utilizando papel filtro (Espessura: 0,16mm) e as frações foram separadas, armazenados em recipientes com rotulagem de identificação e acondicionados. As respectivas frações foram recolhidas individualmente e evaporadas em rota- evaporador rotativo a vácuo (modelo LUCADEMA - Evaporador Rotativo Modelo LUCA-EV01), para proceder com os testes de doseamentos e os testes de atividade posteriormente.

Figura 8 – Processo de obtenção dos extratos vegetais de diferentes polaridades



Fonte: autor.

4.3 *Screening* fitoquímico

O teste de *Screening* fitoquímico é um método qualitativo, utilizado para identificar a presença de metabólitos secundários no material vegetal. A metodologia foi realizada com a matéria vegetal bruta (pó) das cascas e folhas de *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini*, baseando-se em Costa (1982) e na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (2019), como detalhado na tabela 1:

Tabela 1 - Testes fitoquímicos para a identificação das principais classes de metabólitos secundários presentes nas cascas e folhas de *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini*.

Classe dos metabólitos secundários	Testes
Alcaloides	Teste de Dragendorff
Terpenos e esteroides	Teste de Liebermann-Burchard
Flavonoides	Teste de Shinoda/Teste oxalo-bórico
Saponinas	Teste de espuma
Taninos	Teste do cloreto férrico

Fonte: Costa, 1982.

4.3.1 Determinação de alcaloides (Teste de Dragendorff)

Foi utilizado 1g do material bruto triturado (pó) da planta, após a pesagem foi feita já no tubo de ensaio. Foi colocado 10mL de H₂SO₄ a 1% dentro do tubo e posteriormente, o mesmo foi levado para aquecer em banho-maria (100°C). Em seguida, foi feita a filtração do conteúdo, foi retirada uma alíquota e passada para um novo tubo de ensaio e a este foi aplicado 3 gotas do reagente Dragendorff. Para comprovar a existência de alcalóides na matéria vegetal, após a reação, verifica-se a formação de um precipitado com uma coloração laranja-avermelhado visível, indicando que há o metabólito de interesse.

4.3.2 Determinação de esteroides e terpenos (Teste de Liebermann-Buchard)

Foi utilizado 1g do material bruto triturado (pó) da planta, após a pesagem foi feita já no tubo de ensaio. Foi acrescentado 3mL do solvente diclorometano ao tubo de ensaio. Foi

realizada uma filtração do conteúdo e em seguida, ao líquido filtrado foi acrescentado 2mL do reagente anidrido acético. Foi feita uma agitação intensa do tubo de ensaio durante 2 minutos, foi aplicado no tubo 5 gotas de H₂SO₄ concentrado. Os resultados evidenciam as colorações rosa, azul e verde, quando há terpenos e esteróides no material analisado.

4.3.3 Determinação de flavonoides (Teste de Shinoda)

Foi utilizado 1g do material bruto, foi pesado no próprio tubo de ensaio e aplicado 5 mL de metanol. Em seguida, foi realizada uma filtração e o líquido filtrado foi reservado, a este foi acrescentado 1 mL de HCL concentrado. Posteriormente, foi utilizada um pequeno pedaço de fita (1 cm) de magnésio. Após adicionar a fita de magnésio ocorre uma reação, fazendo com que seja visível no tubo de ensaio uma coloração rosa, caso seja detectada a presença de flavonoides.

4.3.4 Determinação de flavonoides (Teste oxalo-bórico)

Foi utilizado 1g do material bruto, foi pesado no próprio tubo de ensaio, em seguida foi depositado 10 mL de acetona a este tubo. A solução foi filtrada e depois levada para ser concentrada até 0,5 mL em banho-maria. Posteriormente, foi acrescentado a este tubo de ensaio 0,5 mg de ácido oxálico e ácido bórico. O conteúdo foi levado para passar um processo de aquecimento durante 5 minutos, também em banho-maria, em seguida, foi acrescentado 10 mL de éter etílico ao tubo. Caso dê positivo para flavonoides é verificada a presença de fluorescência no conteúdo do tubo de ensaio, quando é exposto a luz UV.

4.3.5 Determinação de saponinas (Teste de espuma)

Foi utilizado 1g do material bruto, foi pesado no tubo de ensaio, foi acrescentado 5 mL de água destilada e posteriormente realizada uma agitação intensa no tubo de ensaio durante 5 minutos. Após esse tempo, o tubo permaneceu em repouso 30 minutos para que fosse verificado se a espuma era persistente, essa característica é indica a presença de saponinas no material vegetal.

4.3.6 Determinação de taninos (Teste de cloreto férrico)

Foi utilizado 1g do material bruto, pesado em tubo de ensaio, no qual foi acrescentado 10 mL de água destilada, em seguida, foi realizada uma filtração e na solução obtida foram acrescentadas 3 gotas de cloreto férrico a 1%. O objetivo é a detecção de taninos condensado,

há formação visível de uma coloração verde, já para taninos hidrolisáveis é identificada uma cor azul no tubo de ensaio.

4.4 Doseamento dos metabólitos secundários

4.4.1 Determinação do Conteúdo Fenólico Total

Para determinação do conteúdo fenólico total foi utilizada a metodologia descrita por Amorim et al. (2008). O extrato seco de cada planta foi diluído em metanol P.A. numa concentração de 1mg/mL em balão volumétrico de 25mL, todo o experimento foi realizado em triplicata. Foi adicionada uma alíquota de 0,2mL (200 µL) do extrato diluído a um tubo de ensaio. Posteriormente, foram adicionados 500 µL do reagente Folin-Ciocalteu (solução aquosa 10%), 1mL de solução de carbonato de sódio (7,5%) e completado o volume com água destilada para 10mL. Após a preparação desta solução, a mistura foi agitada, permanecendo em repouso durante 30 minutos, ao abrigo da luz, a temperatura ambiente. Após esse período, a absorbância da mistura foi medida a 760 nm contra um branco preparado com água destilada. Como padrão foi utilizado o ácido tânico, preparando-se uma curva de calibração em tubos de ensaio com alíquotas de 0,050, 0,100, 0,150, 0,200, 0,250, 0,500, 0,750 e 1 mL da solução padrão de ácido tânico a 1 mg/mL, em água destilada. Posteriormente, foram adicionados 500 µL da solução de Folin-Ciocalteu e 1 mL da solução de carbonato de sódio em cada tubo de ensaio. O volume final foi completado para 10 mL com água destilada. As concentrações finais obtidas do ácido tânico ficaram 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 µg/mL, respectivamente. A cor azul produzida pela reação apresenta absorção máxima a 760 nm e é proporcional a taxa de compostos fenólicos. O teor de fenóis totais foi expresso como miligramas equivalentes de ácido tânico por grama de amostra (mg EAT/g) (AMORIM et al., 2008).

4.4.2 Determinação do Conteúdo de Taninos

A determinação do teor de taninos foi realizada segundo protocolo desenvolvido por Amorim et al. (2008) e adaptado para ambas as espécies. Os extratos secos passaram por diluição em metanol P.A. numa concentração de 1 mg/mL em balão volumétrico de 25 mL, em triplicata. Posteriormente, foram pesados 1 g de caseína e transferidos para erlenmeyer de 25 mL, acrescentando 6 mL da amostra diluída em metanol e 12 mL de água destilada, em triplicata. Após 3 (três) horas de reação sob agitação, o conteúdo foi filtrado em balão volumétrico e completado o volume para 25 mL com água destilada. Foi retirada uma alíquota de 1 mL e

quantificados os fenóis residuais pelo método Folin-Ciocalteu. O teor de taninos foi calculado pela diferença entre o conteúdo de fenóis totais e fenóis residuais. Como padrão foi utilizado o ácido tânico, a curva de calibração foi preparada conforme descrito no item anterior.

4.4.3 Determinação do Conteúdo de Flavonoides

O doseamento para flavonoides foi realizado baseado em Silva (2017) com adaptações. O extrato seco foi solubilizado em metanol P.A numa concentração de 1mg/mL em balão volumétrico de 25 mL, em triplicata. Para quantificar os flavonoides, uma alíquota de 0,2mL (200 µL) do extrato diluído foi transferida para tubos de ensaio. Posteriormente, se adicionou 0,120 mL (120 µL) de ácido acético glacial, 0,5 mL (500 µL) do reagente cloreto de alumínio (5%, p/v em água destilada), em seguida o volume foi ajustado para 10 mL com água destilada em cada tubo. Após a preparação desta solução, agitou-se e permaneceu em repouso por 30 minutos, ao abrigo da luz, a temperatura ambiente. Após esse período, a absorbância da mistura foi medida a 420 nm contra um branco preparado com água destilada.

Preparou-se a curva de calibração com alíquotas de 0,05; 0,10; 0,25; 0,50; 0,75; 1,00; 1,50; 2,00 mL da solução de rutina (0,1 mg/mL em metanol), em tubos de ensaio. Posteriormente, foram adicionados 120 µL da solução de ácido acético, 0,5 mL do reagente cloreto de alumínio. O volume final foi completado para 10 mL com água destilada. As concentrações finais de rutina foram de 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 15,0; 20,0 µg/mL, respectivamente. O teor de flavonoides totais foi expresso como miligramas equivalente de rutina por grama de extrato (mg ER/g).

4.4.4 Determinação do conteúdo de cumarinas

O ensaio colorimétrico descrito por Osório e Martins (2004) com adaptações foi utilizado para quantificar o conteúdo de cumarinas. Foram transferidos 0,5 mL do extrato diluído (1,0 mg/mL) para tubos de ensaio. Posteriormente, adicionados 2 mL de água destilada e 500 µL da solução de acetato de chumbo. As amostras passaram por agitação e, em seguida, adicionou-se 7 mL de água destilada. Posteriormente foi feita a filtragem, desta solução, 2 mL foram transferidos para novos tubos de ensaio e adicionados 8 mL da solução de ácido clorídrico. As amostras permaneceram por 30 minutos ao abrigo da luz à temperatura ambiente. A absorbância da mistura foi medida a 320 nm contra um branco preparado com água destilada. A curva de calibração (alíquotas de 10, 25, 100, 200, 300, 400, 500 µL) foi preparada com uma solução padrão de 1,2-benzopirona e todos os demais reagentes citados anteriormente para os extratos,

aferindo-se o volume final para 10 mL com água destilada. O ensaio foi realizado em triplicata e as concentrações finais de cumarina ficaram entre 0,4-20,0 µg/mL. O teor de cumarinas totais foi expresso como miligramas equivalente de cumarina por grama de extrato (mg EC/g).

4.5 Triagem fitoquímica por cromatografia em camada delgada (CCD)

Os extratos brutos e frações foram avaliados por CCD, para identificação da presença de várias classes de metabólitos (Tabela 2). Para realização do processo, utilizamos uma cuba cromatográfica de vidro com tampa, na qual foi adicionado o sistema eluente específico para cada classe de metabólito. Para a preparação dos extratos, foi inicialmente feita a solubilização de 0,10 mg dos extratos em 1,5 mL de metanol, para que as amostras ficassem o mais homogêneas possíveis, o material foi colocado em ultrassom (Marca UNIQUE - Modelo Ultra Cleaner 1400A).

As placas de sílica em papel foram recortadas, as medidas dos pontos de aplicação foram feitas de forma que ficassem em uma distância adequada entre um ponto e outro. As aplicações dos extratos sobre a placa foram feitas com o auxílio de capilares, após cada aplicação aguardamos o tempo de secagem total dos extratos. Posteriormente, as placas de sílica foram colocadas dentro da cubeta cromatográfica para o contato com o eluente, aguardamos o eluente realizar o arraste dos compostos presentes nos extratos, em seguida as placas foram retiradas da cubeta antes do eluente subir no topo, foi feita a secagem com ar quente e levamos para visualização na luz UV (365 nm) e na luz verde (254 nm).

Após verificar a qualidade das placas, realizamos a aplicação do revelador, com jato em spray sobre ela, foi feita a secagem com ar quente novamente e levadas para visualização na luz UV (365 nm) e na luz verde (254 nm) (Química - Métodos Cromatográficos, 2019).

Tabela 2. Sistema eluente, padrão e revelador para identificação de compostos fenólicos presentes nos extratos

Metabólitos secundários	Sistema eluente	Padrão	Revelador	Coloração
Compostos Fenólicos	Acetato de Etila: Ácido Fórmico: Água (27:1,5:1,5)	Rutina	NEU	Laranja e amarelo
Naftoquinonas	Tolueno: ácido fórmico (20:10)	Lapachol	KOH etanólico 10%	Violeta a marrom

Taninos	Acetato de Etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (20,30: 2,2: 2,2: 5,3)	Ácido gálico	FeCl ₃	Azul
Flavonoides	Acetato de Etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (20,30: 2,2: 2,2: 5,3)	Rutina	NEU	Laranja e amarelo
Triterpenos e esteroides	Tolueno: clorofórmio:etanol (12,5:12,5:5)	Sistosterol	Lieberman-Burchard 5-10min a 110° C	Azul, Azul- violeta

Fonte: DA SILVA FILHO, 2010.

4.6 Cultivo do fungo

O fungo *Fusarium oxysporum* (amostra 0080; 0086 e B901A) foi cedido Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA) e mantido em meio Ágar Batata Dextrose (BDA) a 30°C.

4.7 Seleção de cepas

Inicialmente, foi realizada uma triagem a fim de selecionar entre as três cepas de *Fusarium oxysporum*, a mais sensível aos extratos das duas plantas.

As cepas foram semeadas em placas de Petri contendo o meio Batata Dextrose Ágar (BDA), mantidas por 7 dias em estufa a 30°C. Para cada amostra, foi preparada uma suspensão de conídios e transferida para placas de Petri contendo o meio BDA. Todos os extratos (solubilizados com o sistema de solvente DMSO (a 10%); Tween 80 e Etanol P. A / 1:1:1 ml) foram utilizados na concentração 200 mg/mL e o antifúngico Tecto (comercial) usado na concentração 485g/L indicada pelo fabricante. Cada disco (6mm) de papel foi embebido com 10 µL da concentração final e transferidos para as placas de Petri colocados sobre a preparadas anteriormente, além do controle negativo do sistema de solvente (DMSO (a 10%); Tween e Etanol P. A / 5:5:5 ml).

A metodologia foi baseada em More, et al., (2017) com adaptações. As placas foram incubadas em estufa a 30°C por 48 horas para posterior leitura e interpretação. Após 48 horas, foi realizado a leitura dos halos de inibição (mm). Os extratos selecionados foram submetidos ao teste de difusão em poço.

4.8 Método de difusão em ágar por poço

Para o método de difusão por poço foram utilizadas quatro diferentes concentrações dos extratos vegetais, de 200; 400; 600 e 800 mg/ml, todos os extratos solubilizados apenas com DMSO (a 10%).

O *Fusarium oxysporum* foi crescido em meio Ágar Batata Dextrose (BDA) por sete dias antes do teste. Nas placas de Petri, contendo o *F. oxysporum* crescido, foram vertidos 10 ml de água destilada esterilizada (ADE), parte facilitar a coleta dos conídios. Com o auxílio de um bisturi, foi feita a raspagem do fungo, posteriormente, o líquido foi transferido para um funil (gaze) acoplado a um tubo Falcon estéril de 10 ml, para separar os conídios do micélio.

O filtrado contendo os conídios foram homogeneizados (agitação) e uma alíquota transferida para cubeta de quartzo, para ser realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro. A leitura foi realizada a 530nm, para atingir uma densidade óptica (DO) em torno de 0,15 e 0,17, para obter uma concentração final de $1,0 \times 10^8$ UFC/mL, de acordo com Georgacopoulos, et al., (2021).

Com o auxílio de um *swab*, os conídios foram espalhados na superfície da placa de Petri contendo o meio BDA. Após a inoculação foram feitos 4 poços por placa com o auxílio de um perfurador esterilizado e retirados os blocos de gelose. (De Bona, et al., 2014 com adaptações). Em seguida, foi depositado em cada poço 10 microlitros do meio BDA, para fechar o fundo do orifício feito, após aguardar alguns minutos para solidificar, foram transferidos para cada poço 20µL dos extratos.

Como controle positivo foi empregado 20µL do antifúngico comercial 2-(thiazol-4-yl)benzimidazole (TIABENDAZOL), com o nome comercial Tecto, diluído com água destilada esterilizada na proporção 1:10, também, em quadruplicada. Para o controle do solvente, foram pipetados 20µL do DMSO (a 10%) nos poços, em quadruplicada. O tempo de incubação foi de 48 horas a 30°C, para posterior avaliação e medição do halo.

4.9 Análise Estatística

Acerca das análises estatísticas, serão empregados como testes a Análise de Variância ANOVA One-way e para a técnica de Difusão em poço será aplicado o teste ANOVA Two-way. Também será utilizado o Teste de Tukey para poder interpretar os resultados obtidos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento do extrato vegetal

O rendimento dos extratos vegetais diferiu, dependendo do solvente extrator e da parte da planta utilizada, foi empregada o método de maceração. Os extratos de hexano (baixa polaridade), foram os que apresentaram um menor rendimento. Os extratos metanólicos (alta polaridade), foram os que exibiram um melhor rendimento (Tabela 3).

Haminiuk, et al., (2014) observaram que, quando empregaram metanol e a combinação de metanol/água (MA), a obtenção dos metabólitos flavonoides e ácidos fenólicos foi mais elevada, quando comparado com a quantidade obtida dos mesmos compostos ao aplicar etanol/água (EA). Ferreira et al., (2021) destacam que, de forma geral, é mais comum a presença de uma maior quantidade de metabólitos secundários nas folhas das espécies vegetais.

More et al., (2017) também obtiveram maiores valores com relação ao rendimento do extrato vegetal quando empregado o solvente metanol, visto que, esse líquido extrator é capaz de fazer o arraste de uma ampla gama de metabólitos secundários existente na composição fitoquímica de espécies vegetais, isso se deve também ao fato de ser um solvente de alta polaridade.

Tabela 3 - Rendimento dos extratos vegetais de *Syzygium cumini* e *Eugenia uniflora* após extração com os solventes hexano, Acetato de etila e metanol

Solvente	<i>Syzygium cumini</i> (g)				<i>Eugenia uniflora</i> (g)			
	Folhas	%	Cascas	%	Folhas	%	Cascas	%
Hex	2,4864	1,20	0,0950	0,50	0,9716	2,00	0,9716	0,05
AcOEt	5,7744	2,90	0,4106	0,20	2,9335	1,50	1,6612	0,80
MeOH	15,0925	7,50	23,3706	11,70	27,0875	13,5	10,3144	5,10

Hexano: Hex; Acetato de Etila: AcOEt; Metanol: MeOH; Porcentagem: %; **Fonte:** autor.

5.2 Perfil Fitoquímico de *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini*

Os resultados do perfil fitoquímico estão descritos nas tabelas 4 e 5, e, nas figuras 9 e 10. *Screening* fitoquímico das das folhas de *Eugenia uniflora* apresentaram uma maior quantidade de terpenos, esteróides, saponinas e taninos. As cascas uma maior intensidade para os metabólitos flavonoides e taninos. O *Screening* das folhas de *Syzygium cumini* demonstrou uma maior quantidade de tepenos, esteróides e taninos e as cascas apresentaram mais taninos, pela intensidade na coloração.

Syama et al., (2019), realizaram o *screening* porém, utilizaram os extratos e não o material vegetal em pó. Os testes foram feitos apenas com as folhas de *E. uniflora* e o teor de flavonoides foi considerado intenso para os solventes metanólico, acetato de etila e etanólico. Saponinas foram detectadas em grande quantidade nos extratos etanólico e metanólico. Para taninos, os autores verificaram alta intensidade do metabólito no extrato etanólico.

Tabela 4 - Resultados do *Screening* fitoquímico de *Eugenia uniflora*

Metabólito secundário	Cascas de <i>Eugenia uniflora</i> *	Folhas de <i>Eugenia uniflora</i> *
Alcaloides	-	+
Terpenos e esteroides	++	+++
Flavonoides	+++	+
Saponinas	++	+++
Taninos	+++	+++

Fonte: autor. (+++) Forte intensidade; (++) Média intensidade; (+) Fraca intensidade; (-) Não reativo.

Figura 9 - Tubos de ensaios com os testes fitoquímicos de *Eugenia uniflora*.



Fonte: Carlos Moura / Fernanda Nascimento

Legenda: PF1: Pitanga/Folha (Alcaloides); PF2: Pitanga/Folha (Terpenos e esteroides); PF3: Pitanga/Folha (Flavonoides); PF4: Pitanga/Folha (Saponinas); PF5: Pitanga/Folha (Taninos); PC1: Pitanga/Casca (Alcaloide); PC2: Pitanga/Casca (Terpenos e esteroides); PC3: Pitanga/Casca (Flavonoides); PC4: Pitanga/Casca (Saponinas); PC5: Pitanga/Casca (Taninos).

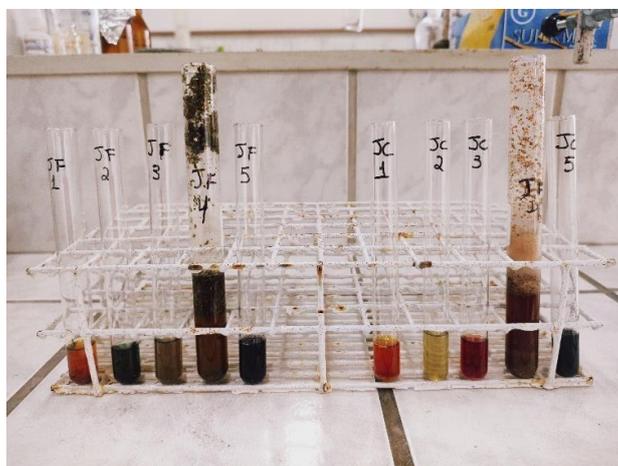
Barros, et al., (2023), a partir de uma revisão descreve que, a presença de diferentes tipos de terpenos contribui para a ação antifúngica promovida por *Eugenia uniflora* no combate de microrganismos. Bittencourt et al., (2021) descrevem a presença de saponinas, taninos, flavonoides e alcalóides a partir do screening das folhas de *Eugenia uniflora* e nas cascas apenas saponinas e alcalóides. Os autores, também, analisaram pelo mesmo método se havia cumarinas no material vegetal, e não identificaram a presença do metabólito, indo de acordo com o que foi achado nesta pesquisa com o teste de quantificação fitoquímica.

Tabela 5 - Resultados dos screenings fitoquímicos de *Syzygium cumini*

Metabólito secundário	Cascas de <i>Syzygium cumini</i> *	Folhas de <i>Syzygium cumini</i> *
Alcaloides	+	-
Terpenos e esteroides	+	+++
Flavonoides	++	-
Saponinas	+	-
Taninos	+++	+++

Fonte: autor. (+++) Forte intensidade; (++) Média intensidade; (+) Fraca intensidade; (-) Não reativo.

Figura 10- Tubos de ensaios com os testes fitoquímicos de *Syzygium cumini*.



Fonte: Carlos Moura / Fernanda Nascimento

Legenda: JF1: Jambolão/Folha (Alcaloides); JF2: Jambolão/Folha (Terpenos e esteroides); JF3: Jambolão/Folha (Flavonoides); JF4: Jambolão/Folha (Saponinas); JF5: Jambolão/Folha (Taninos); JC1: Jambolão/Casca (Alcaloides); JC2: Jambolão/Casca (Terpenos e esteroides); JC3: Jambolão/Casca (Flavonoides); JC4: Jambolão/Casca (Saponinas); JC5: Jambolão/Casca (Taninos).

Thite. et al., (2013) também não identificaram a presença de saponinas na matriz vegetal de *Syzygium cumini*. Tambe et al., (2021) realizaram o teste empregando extratos aquoso e metanólico das folhas de *Syzygium cumini* e encontraram uma grande quantidade de flavonoides em ambos os extratos vegetais. A presença de terpenos foi considerada moderada no solvente aquoso e para taninos não foi identificado grandes quantidades, sendo verificado um resultado semelhante para esse metabólito nos dois solventes (metanol e aquoso). Os resultados para saponinas foram negativos, assim como os dados obtidos nesta pesquisa.

Aziz e Banerjee (2018) identificaram alcalóides, taninos, saponinas, flavonóides, fenóis e esteróides, a partir dos extratos das sementes de *S. cumini*. Os solventes extratores selecionados para o teste foram: metanol, éter de petróleo e etanol.

Palakurthi et al., (2022) informaram a presença apenas da presença dos metabólitos, não especificando se estavam em pequena ou grande intensidade. Os autores avaliaram o pó da semente de *Syzygium cumini* e encontraram através do screening a existência de flavonoides, fenóis, alcalóides, taninos, esteróides e triterpenos.

5.3 Perfil Fitoquímico por Cromatografia de Camada Delgada (CCD)

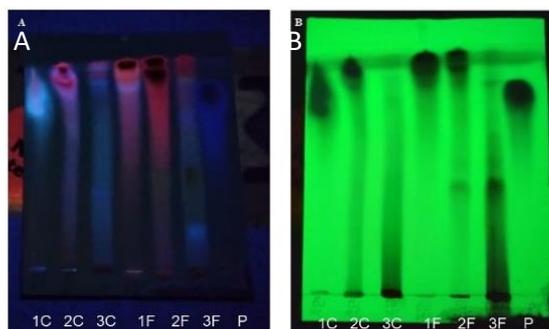
O método cromatográfico CCD é considerado um método analítico qualitativo de custo baixo, apresenta exatidão nos resultados e de fácil domínio com relação a preparação laboratorial, sendo possível realizar a separação do conjunto de metabólitos que estão presentes na amostra, além de identificar quimicamente cada um deles (ALMEIDA, et al., 2015; BATISTA, et al., 2020). As figuras de 10 a 19 mostram as placas cromatográficas dos extratos vegetais e a tabela 6 a intensidades das bandas.

Para a identificação de compostos fenólicos foram utilizados como revelador a rutina e o NEU como revelador nas frações dos extratos hexano, acetato de etila e metanol. O resultado do perfil fitoquímico por cromatografia para o extrato hexânico das cascas de

Eugenia uniflora (pitanga) revelou a presença de derivados cinâmicos e flavonoides, para as folhas da mesma espécie também com o solvente hexano, existe a presença de flavonoides e taninos condensados. Quando empregado o solvente acetato de etila, as cascas evidenciaram os compostos taninos condensados e flavonoides e as folhas apresentaram flavonoides.

Tanto as folhas quanto as cascas da espécie, em solvente metanólico mostraram a presença de taninos condensados, fenilpropanoglicosídeos, flavonoides e derivados cinâmicos. Para todos os extratos (hexano, acetato de etila e metanol) das cascas e folhas da pitanga foram identificados compostos fenólicos. Kauffmann, et al., (2017) observaram a partir da cromatografia de camada delgada (CCD), tanto do extrato bruto quanto na fração etanólica a existência de flavonoides, saponinas, terpenos e taninos. E a ausência de alcaloides, antraquinonas e cumarinas no extrato bruto e nas seguintes frações (etanol, acetato de etila, clorofórmio e hexano).

Figura 11 - Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada -CCD), mostrando os compostos fenólicos da espécie *Eugenia uniflora* (pitanga) com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).



Legenda: 1C: Extrato hexano/casca; 2C: Extrato acetato de etila/casca; 3C: Extrato metanol/casca. 1F: Extrato hexano/ folha; 2F: Extrato acetato de etila/folha; 3F: Extrato metanol/folha; P: Padrão ácido gálico.

Com relação ao perfil cromatográfico de *Syzygium cumini* (jambolão), no extrato hexânico das cascas foi identificada a existência de derivados cinâmicos, pela coloração azul intenso no UV-365nm. Para as folhas encontramos a presença de flavonoides, resultados semelhantes ao que foi encontrado em *Eugenia uniflora*, para a mesma parte da planta e mesmo solvente. Para o solvente acetato de etila, nas cascas identificamos taninos condensados e nas folhas flavonoides. Por fim, os extratos metanólicos das cascas exibiram a existência de taninos condensados e fenilpropanoglicosídeos o que também foi encontrado para a pitanga.

Nas folhas de *Syzygium cumini* houve o aparecimento de flavonoides e taninos condensados. Da mesma forma que a pitanga, os extratos de jambolão demonstram a partir de seu perfil fitoquímico por cromatografia, ter compostos fenólicos em sua composição.

Itankar et al., (2015), observaram por métodos de quantificação a presença de saponinas, taninos, flavonoides, alcaloides e esteroides. O jambolão está entre as espécies analisadas, sendo os extratos e droga bruta obtidos de mercado e lojas específicas de produtos naturais. O teor de polifenóis da espécie foi mais alta a partir dos testes feitos com material vegetal comprado em lojas de produtos naturais, com (15,54%) de teor, quando comparado com material vegetal comprado em mercado, que exibiu valores de (7,92%) para o metabólito.

Ao realizarem a caracterização do óleo essencial das folhas de *Syzygium cumini* por cromatografia gasosa-acoplada a espectrometria de massa (CG-MS), foram identificados por Everton et al., (2020) mono e sesquiterpenos. Também foi feita a quantificação pelo método de Folin-Ciocalteu para fenóis e o teor foi de (578,453 mg EAT⁻¹), superior ao que foi encontrado nesta pesquisa, empregando o mesmo método.

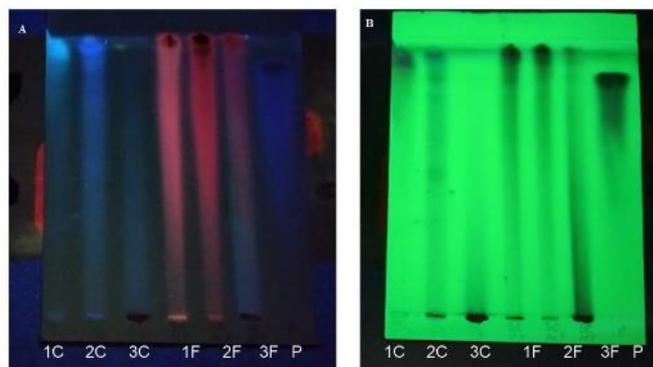
Jagapriya e Saranya (2020) ao realizar a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas com extratos as sementes de *S. cumini* encontraram cardinol (sesquiterpenóide), que possui ação antifúngica e antimicrobiana. Fernandes et al., (2022) detectaram alfa-pinene (monoterpeno), como o componente em maior concentração (53,21%) no óleo essencial das folhas do jambolão. O Nerol (monoterpeno) foi o segundo composto em maior quantidade, com (9,38%).

Bratt et al., (2019) observaram uma quantidade elevada de compostos fenólicos totais ($36,47 \pm 0,09$), quando comparado com os dados obtidos dos extratos aquoso ($16,59 \pm 0,24$) e de clorofórmio ($2,02 \pm 0,13$), a partir do extrato metanólico das folhas de *Syzygium cumini*. Além de teste de quantificação os autores fizeram cromatografia em camada delgada (CCD), sendo o teste positivo para saponinas, alcaloides, compostos fenólicos e taninos.

Perera et al., (2017) observaram através da cromatografia de alta eficiência (HPLC), das cascas de *S. cumini* e os dados mostraram a presença de compostos fenólicos como: ácido elágico (polifenol) e a umbeliferona (membro da família de cumarinas).

Daniel e Krishnakumari (2015) ao realizarem testes de quantificação para fenóis, taninos, alcaloides e flavonoides, verificaram que a última classe foi a que exibiu maior teor (flavonoides= $2,11 \pm 0,07$). Os autores também destacam a importância da gama de atividades biológicas promovidas pelos flavonoides, entre elas a ação antimicrobiana.

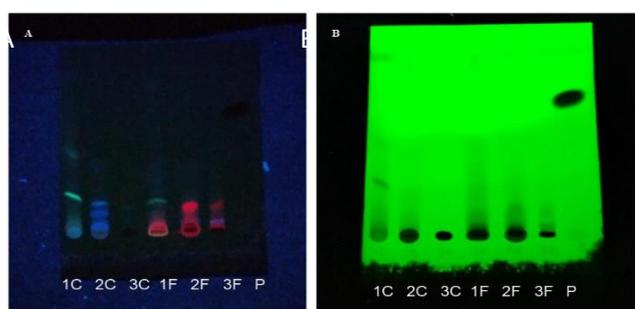
Figura 12 - Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada -CCD), mostrando os compostos fenólicos da espécie *Syzygium cumini* (jambolão) com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).



Legenda: 1C: Extrato hexano/casca; 2C: Extrato acetato de etila/casca; 3C: Extrato metanol/casca. 1F: Extrato hexano/ folha; 2F: Extrato acetato de etila/folha; 3F: Extrato metanol/folha; P: Padrão ácido gálico

Foi observado a presença de naftoquinonas no extrato de acetato de etila do jambolão e no extrato metanólico das folhas. Nas cascas, foi identificado a presença do metabólito apenas no extrato metanólico. Gifita, et al., (2019) detectaram a presença de quinonas e antraquinonas no extrato da semente de *Syzygium cumini*, sendo o metanol o solvente de extração. Gonzáles-Blas, et al., (2022), confirmam a presença de quinonas tanto nas folhas quanto nas sementes do jambolão.

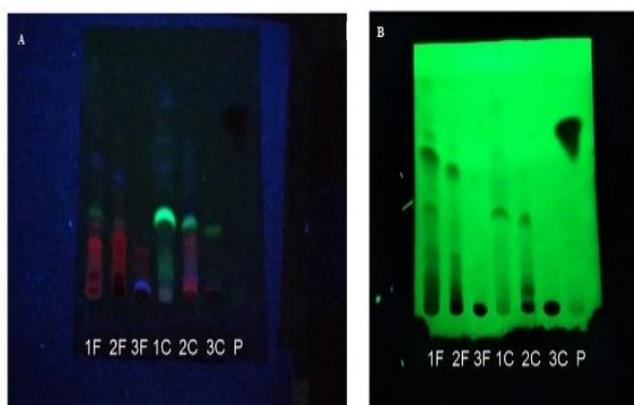
Figura 13 - Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando as Naftoquinonas, da espécie *Syzygium cumini* (jambolão), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).



Legenda: 1C: Extrato hexano/casca; 2C: Extrato acetato de etila/casca; 3C: Extrato metanol/casca. 1F: Extrato hexano/ folha; 2F: Extrato acetato de etila/folha; 3F: Extrato metanol/folha; P: Padrão Lapachol

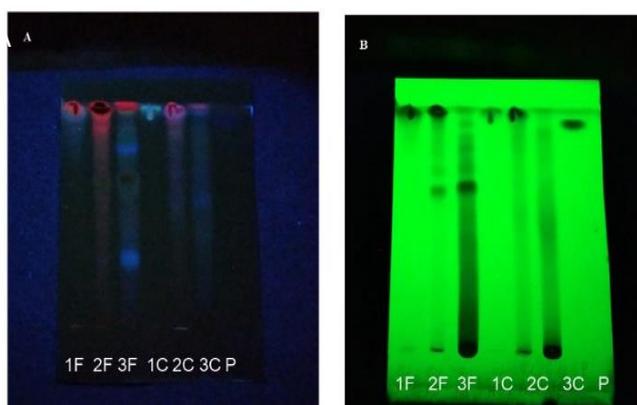
No teste para a espécie *Eugenia uniflora* foi identificado a presença de naftoquinonas no extrato metanólico das folhas e das cascas. Santoso et al., (2020), realizaram um teste fitoquímico específico para o metabólito e a coloração vermelha indicou a existência de quinonas nos extratos das folhas da espécie vegetal *E. uniflora*. Entre os solventes empregados estão o metanol e o acetato de etila. As naftoquinonas têm ação anticancerígena e antiparasitária comprovadas (AGUIAR, et al., 2020).

Figura 14 - Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando as Naftoquinonas, da espécie *Eugenia uniflora* (pitanga), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).



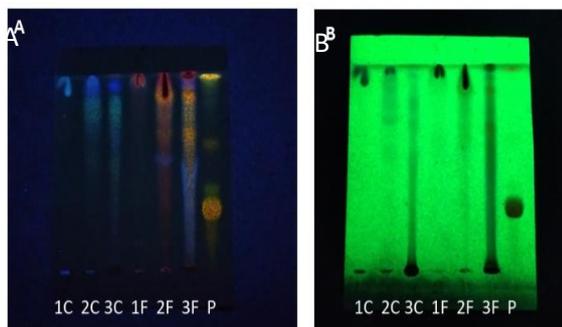
Legenda: 1C: Extrato hexano/folhas; 2C: Extrato acetato de etila/folhas; 3C: Extrato metanol/folhas. 1F: Extrato hexano/ cascas; 2F: Extrato acetato de etila/cascas; 3F: Extrato metanol/cascas; P: Padrão Lapachol

Figura 15 - Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando os flavonoides, da espécie *Syzygium cumini* (jambolão), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).



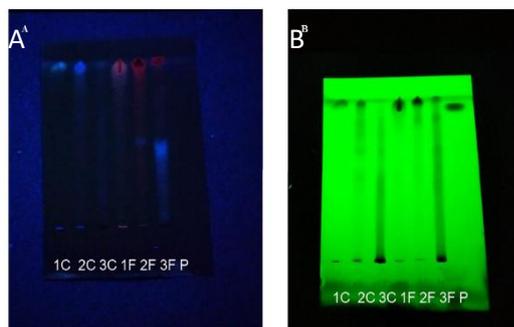
Legenda: 1C: Extrato hexano/cascas; 2C: Extrato acetato de etila/cascas; 3C: Extrato metanol/cascas 1F: Extrato hexano/ folhas. 2F: Extrato acetato de etila/folhas; 3F: Extrato metanol/folhas; P: Padrão Rutina

Figura 16 - Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando os flavonoides, da espécie *Eugenia uniflora* (pitanga), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).



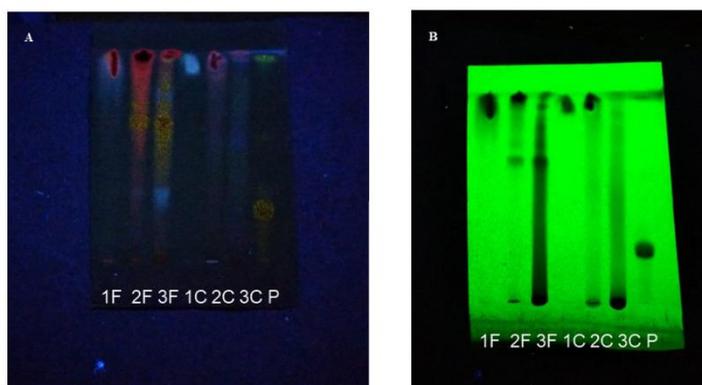
Legenda: 1F: Extrato hexano/folhas; 2F: Extrato acetato de etila/folhas 3F: Extrato metanol/folhas 1C: Extrato hexano/cascas 2C: Extrato acetato de etila/cascas; 3F: Extrato metanol/cascas; P: Padrão Rutina

Figura 17 – Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando as Taninos, da espécie *Eugenia uniflora* (pitanga), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).



Legenda: 1F: Extrato hexano/folhas; 2F: Extrato acetato de etila/folhas 3F: Extrato metanol/folhas 1C: Extrato hexano/cascas 2C: Extrato acetato de etila/cascas; 3F: Extrato metanol/cascas; P: Cloreto Férrico

Figura 18 - Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando as Taninos, da espécie *Sygygium cumini* (jambolão), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).

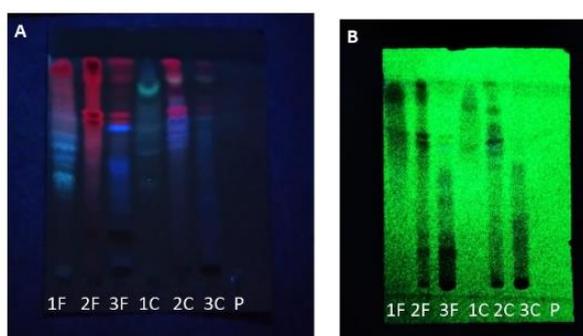


Legenda: 1C: Extrato hexano/cascas; 2C: Extrato acetato de etila/cascas 3C: Extrato metanol/cascas 1F: Extrato hexano/folhas 2F: Extrato acetato de etila/folhas; 3F: Extrato metanol/folhas; P: Cloreto Férrico

Entre os compostos selecionados por Dolabela et al., (2018), obtidos da espécie vegetal *Himatanthus articulatus*, estão os terpenos, esses que apresentam atividade antifúngica e antimicrobiana comprovada. Ainda segundo os autores, a ação antifúngica promovida pelos terpenos e dos iridróides pode estar relacionada com o cromossomo CYP, podendo estar causando inibição enzimática nesse citocromo, que está envolvido com a membrana do microrganismo.

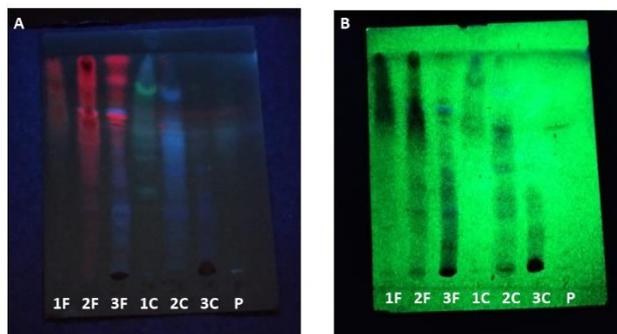
Nascimento e Santos et al., (2015), identificaram a presença de terpenos quando realizada a cromatografia de camada delgada (CCD), e os compostos Germacrone e γ -elemeno (ambos são sesquiterpenos) em quantidade considerável ao utilizar o CG-MS (Gas Chromatography Mass spectrometry), a partir de extratos obtidos das sementes de *Eugenia uniflora*.

Figura 19 - Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando as Triterpenos e esteroides, da espécie *Eugenia uniflora* (pitanga), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).



Legenda: 1F: Extrato hexano/folhas; 2F: Extrato acetato de etila/folhas 3F: Extrato metanol/folhas 1C: Extrato hexano/cascas 2C: Extrato acetato de etila/cascas; 3F: Extrato metanol/cascas; P: Sistosterol

Figura 20 - Placas cromatográficas (cromatografia em camada delgada) mostrando as triterpenos e esteroides, da espécie *Syzygium cumini* (jambolão), com leitura nos comprimentos de onda de 365(A) e 254 (B).



Legenda: 1F: Extrato hexano/folhas; 2F: Extrato acetato de etila/folhas 3F: Extrato metanol/folhas 1C: Extrato hexano/cascas 2C: Extrato acetato de etila/cascas; 3F: Extrato metanol/cascas; P: Sistosterol

Tabela 6 - Cromatografia em Camada Delgada (CCD) para compostos fenólicos das espécies vegetais *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini*.

Grupos químicos	<i>Eugenia uniflora</i>						<i>Syzygium cumini</i>					
	Hexano		Acetato de etila		Metanol		Hexano		Acetato de etila		Metanol	
	Folh a	Casc a	Folh a	Casc a	Folh a	Casc a	Folh a	Casc a	Folh a	Casc a	Folh a	Casc a
C	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
F	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+
T	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+
N	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
TE	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+

Legenda: presença (+); ausência (-) CF – compostos fenólicos; T- Taninos; N- Naftoquinonas; TE- Terpenos e Esteroides.

5.4 Perfil Fitoquímico de Compostos pelo método de Doseamentos

Para os teores de fenóis, taninos e flavonoides, os valores dispostos na tabela 7 é referente a média obtida da triplicata e os valores do desvio padrão para cada amostra apresentados em mg/g, proporcional a 1,2 - benzopirona para as análises de cumarinas e para fenóis totais e taninos foi utilizado o ácido tânico em mg/g. Pelo método utilizado não foram detectados teores de cumarinas.

Com relação aos teores de fenóis totais, a espécie *Eugenia uniflora* exibiu maiores quantidades para o extrato metanólico das folhas $602,97\text{mg/g} \pm 5,92$, seguido do extrato metanólico das cascas com $552,45\text{mg/g} \pm 7,81$. Para os taninos, o extrato de *Eugenia uniflora* que mais se destacou entre todos com relação a quantidade foi o extrato acetato de etila das folhas, apresentando $104,29\text{mg/g} \pm 9,96$.

Zanusso et al., (2023) realizaram testes fitoquímicos com as folhas de *Eugenia uniflora*, os autores verificaram através do teste para fenóis, também baseado no método de Folin-Ciocalteu que, ao empregarem três diferentes formas de extração: infusão; decocção aquosa e maceração hidroalcolica, pôde-se observar que, o teor de fenóis foi mais expressivo nos dois últimos métodos de extração fitoquímica.

As médias dos doseamentos de fenóis, para fins de comparação foram: infusão (média= 5,910444); decocção (média= 10,698) e macerado (média= 10,02956). Para a quantificação de flavonoides, o método aplicado foi similar ao utilizado em nossa pesquisa, com algumas modificações. O solvente utilizado foi o álcool a 93%, a técnica de maceração também foi a que exibiu um maior teor do metabólito, com média de (2,590667). Enquanto, a extração por infusão apresentou média de (0,470889) e a decocção média de (1,195778).

Existem inúmeros fatores que também influenciam no teor de metabólitos secundários, entre eles estão: os diferentes métodos de extração fitoquímica; o solvente empregado; as características climáticas e ambientais do local onde a planta foi coletada; a forma de coleta, armazenamento e trituração (granulometria), até mesmo a poluição ambiental têm influência na fisiologia da planta.

Soni et al., (2015), pontua essa questão em uma revisão, dados obtidos pelos autores mostram que há alteração no teor de compostos devido a mudanças na sazonalidade, a pesquisa também concluiu que em estações mais quentes do ano, por exemplo, foi possível observar

um aumento nos teores de sesquiterpenóides do óleo essencial das folhas de *Eugenia uniflora*, quando comparado com outros meses do ano.

Uma investigação feita por Bezerra et al., (2020) por exemplo, mostrou que a poluição do ar é responsável tanto pelo que é absorvido pela planta quanto pelo que por ela é produzido. Os autores compararam características de *Eugenia uniflora* de uma área florestal e outra urbana do Rio de Janeiro. O material vegetal analisado foram as folhas e os resultados mostraram que ocorreu uma maior produção de metabólitos secundários pela espécie coletada na zona urbana. Esse comportamento condiz com o esperado, levando em consideração que os compostos secundários são fabricados justamente para proteger a planta de estresses abióticos, levando em consideração que é um sistema de defesa das plantas.

A espécie *Syzygium cumini*, os maiores valores de fenóis foram obtidos a partir do extrato metanólico das cascas, com os valores de $416,38 \text{ mg/g} \pm 9,91$, seguido do extrato metanólico das folhas com $395,52 \text{ mg/g} \pm 4,08$. Para *S. cumini*, o extrato metanólico das folhas foi o que demonstrou um maior percentual de taninos, com um total de $121,69 \text{ mg/g} \pm 4,72$.

Silva et al., (2015), observaram que os extratos etanólicos das folhas de *Schinus terebinthifolius* não exibiram quantidades significativas de metabólitos secundários como alcaloides, taninos, flavonoides e outros. Os autores destacam que esse resultado pode estar relacionado com as condições climáticas da região de coleta da espécie, visto que podem ter expressiva influência sobre a composição fitoquímica das plantas. Através de uma análise fitoquímica.

Barbosa et al., (2017) avaliaram três diferentes estruturas (frutos, folhas e talos) de *Solanum acanthodes*, empregando o solvente etanol. Entre os três extratos, os autores detectaram que nos frutos é que existiam uma maior quantidade de metabólitos de diferentes classes. Para os resultados de cumarinas, todos os testes foram negativos, dessa forma foi possível verificar que nenhum dos extratos analisados demonstraram a presença do metabólito.

Para flavonoides, o extrato das folhas de *Eugenia uniflora* com o solvente acetato de etila foi o que mais se destacou com um teor total de $435,12 \text{ mg/g} \pm 7,84$, seguido do extrato hexânico das folhas com $358,79 \text{ mg/g} \pm 1,63$ e o extrato hexânico das cascas, com teores de $358,08 \pm 1,63$. Para a espécie *Syzygium cumini*, os maiores teores encontrados foram referentes ao extrato hexânico das folhas, apresentando $405,51 \text{ mg/g} \pm 8,66$, seguido do extrato de acetato de etila das folhas, exibindo teores de $356,14 \text{ mg/g} \pm 3,32$.

Mariño et al., (2019) verificaram através de teste quantitativo que a amostra de espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) adquirida de um erveiro apresentou maiores teores de flavonóides ($x=395,878$) e desvio padrão de (DP= 1,805), quando comparado com a amostra da mesma espécie, porém, tendo sido adquirida em farmácia de manipulação, apresentando teores de ($x=53,472$) e desvio padrão de (DP= 2,205), valores bastante distintos para o mesmo metabólito secundário.

Esse resultado pode ter tido relação com a procedência do local onde o material vegetal foi obtido, visto que, normalmente os erveiros vendem as plantas medicinais que eles próprios cultivam. Já no segundo cenário, o material por ter sido comprado em uma farmácia, possivelmente passou por diferentes processos em sua produção, embalagem e acondicionamento, ocorrendo assim, alterações físico-químicas no produto final.

Tabela 7- Doseamentos de fenóis totais e taninos das espécies vegetais *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini*

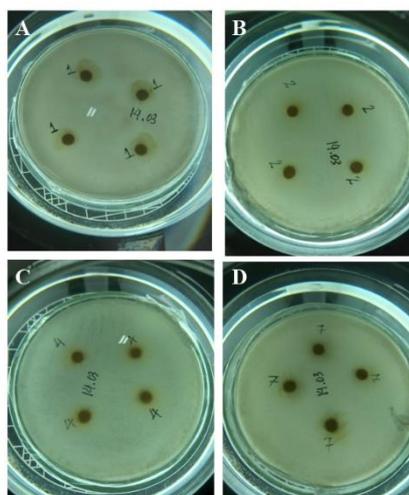
Solvente/ estrutura				
<i>Eugenia uniflora</i>	CFT	CTT	CCT	CFLT
Hex/folhas	40,18 ± 5,22	ND	ND	358,79± 1,63
Hex/cascas	ND	ND	ND	358,08± 1,63
AcOEt/folhas	120,52 ± 5,90	104,29 ± 9,96	ND	435,12± 7,84
AcOEt/ cascas	81,77 ± 6,89	42,71± 6,76	ND	241,58± 8,02
MeOH/folhas	602,97 ± 5,92	ND	ND	155, 15± 4,49
MeOH/ cascas	552,45 ± 7,81	29,09 ± 8,65	ND	ND
Solvente/ estrutura				
<i>Syzygium cumini</i>	CFT	CTT	CCT	CFLT
Hex/folhas	15, 06 ± 2,63	10,16 ± 2,96	ND	405,51± 8,66
Hex/cascas	ND	ND	ND	25,11± 1,94
AcOEt/folhas	156, 16 ± 4,95	121,69 ± 4,72	ND	356, 14± 3,32
AcOEt/cascas	75, 74 ± 8,63	ND	ND	ND
MeOH/folhas	395,52 ± 4,08	ND	ND	17,04 ± 3,16
MeOH/ cascas	416,38 ± 9,91	6,53 ± 6,04	ND	ND

Legenda: CFT = conteúdo de fenóis totais; CTT= conteúdo de taninos totais; CFLT: conteúdo de flavonóides totais; (ND) não detectado pelo método.

5.5 Teste de atividade em disco de papel

A partir da concentração de 200µg/mL, pôde ser verificado que a figura 21 mostra os halos de inibição com discreta, atividade antifúngica frente à cepa de *Fusarium oxysporum*.

Figura 21 – Halos de inibição dos extratos das plantas *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini* frente a *Fusarium oxysporum*



Fonte: autor.

Os dados mostram que quando empregada a concentração de 200 mg/3mL dos extratos verifica-se que houve inibição de conídios por parte de quatro extratos vegetais de *Eugenia uniflora* (pitanga): metanol folha e os hexano e acetato de etila da casca, enquanto o extrato hexano das folhas de *Syzygium cumini*, como mostra a tabela 9 e na figura 23. Em contrapartida, os extratos metanólicos das folhas e da casca do jambolão estimularam o crescimento do fungo na mesma concentração.

Rosenberger, et al., (2020) também observaram um estímulo do desenvolvimento de *Fusarium graminearum* quando empregadas as concentrações de (0,2 e 0,5 mg/mL), as menores concentrações dos extratos das folhas e sementes de *Coix lacrymajobi* (Família Poaceae), uma espécie herbácea. Os autores também abordam que o estímulo pode estar relacionado com compostos produzidos pela planta, como por exemplo, proteínas e carboidratos. Os quatro extratos que apresentaram melhores resultados seguiram para o teste de difusão em ágar por poço.

Tabela 8 – Efeito dos extratos frente ao cultivo de *Fusarium oxysporum* na formação ou não de conídios*

Partes da Planta	<i>Eugenia uniflora</i> *			<i>Syzygium cumini</i> *		
	Hexano	Acetato de Etila	metanol	Hexano	Acetato de Etila	Metanol
Folha	-	-	Inibição	Inibição	-	Aumento
Casca	Inibição	Inibição	-	-	-	Aumento

(-) Sem alteração; Inibição da formação do conídio; Aumento do número de conídios

*Comparadas com as Placas de Petri sem a adição de substâncias (extrato ou antifúngico comercial) **Fonte:** autor.

Domingos et al., (2021) constataram que, tanto os extratos aquosos do alho quanto da hortelã exibiram atividade antifúngica, reduzindo especificamente o desenvolvimento do micélio de *Fusarium oxysporum*, com inibição de 76,9% e 54,7%, respectivamente, empregando a maior concentração de extrato 10,0%. Boseggio et al., (2019) destacam que pesquisas tem confirmado a ação antifúngica e antibacteriano do óleo essencial do alho *Allium sativum* L. De acordo com os autores, essa característica se deve a composição fitoquímica presente na espécie vegetal. Entre os metabólitos de importância, está a alicína.

Mendonça et al., (2016), descrevem que existe um padrão de extensão em milímetros (mm) de halo de inibição que geralmente serve de base para comprovar que houve atividade positiva do material vegetal contra os microrganismos avaliados. A média das triplicatas deve atingir 8mm ou acima desse valor. Ferreira et al., (2015) discordam, os autores consideram o ideal é que o halo de inibição com teste feito em placa de Petri apresente extensão maior que 10mm.

Os dados obtidos a partir da média das quadruplicadas mostraram que o extrato hexânico das folhas do jambolão com 10,69mm de diâmetro, o segundo extrato que exibiu média dos halos acima de nove foi o extrato metanólico das folhas da pitanga com 9,11mm de diâmetro.

Tabela 9 – Halos de inibição dos extratos de *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini* frente a *Fusarium oxysporium*

Partes da planta	Halos de Inibição (mm)			
	<i>Eugenia uniflora</i>			<i>Syzygium cumini</i>
	Hexano	Acetato de Etila	Metanol	Hexano
Folha	-	-	8.23	10.69
Casca	7.02	9.11	-	-

(-) Não apresentou halo de inibição. Antifúngico tecto 32,82mm e antifúngico tenax 31,05mm.

Fonte: autor.

5.6 Método de difusão em ágar pelo método do poço

O extrato hexânico das cascas da pitanga não exibiu atividade antifúngica em nenhuma das concentrações (200; 400; 600 e 800mg/mL).

O extrato metanólico das folhas da *Eugenia uniflora* (pitanga) demonstrou atividade frente a *Fusarium oxysporum*, em três concentrações (800mg/mL; 600mg/mL e 400mg/mL). Foi observada atividade antifúngica crescente com o extrato de acetato de etila das cascas da pitanga, ou seja, à medida que a concentração do extrato aumentou, os halos conseqüentemente foram seguindo o mesmo padrão (tabela 10). Pela caracterização fitoquímica (doseamentos de compostos), foi possível identificar uma quantidade considerável de fenóis nesse material, tanto no *screening* quanto no CCD pôde ser identificado também a presença de triterpenos e esteroides para o mesmo extrato.

O extrato hexânico das folhas de *Syzygium cumini* (jambolão) não demonstrou atividade antifúngica nas concentrações de 600mg/mL e 800mg/mL, na caracterização fitoquímica esse extrato também exibiu alta intensidade para terpenos, esteroides e compostos fenólicos. O extrato hexânico das cascas da pitanga não apresentou ação contra o microrganismo em nenhuma das concentrações dos extratos testadas. O controle do solvente DMSO (a 10%) não apresentou atividade após 48 horas, os halos formados a partir do controle do antifúngico comercial Tenax na proporção de (1:10), atingiram 30,42mm (tabela 10).

Silva et al., (2017) identificaram a formação de halos de inibição atingindo $25,0 \pm 1,0$ de diâmetro pela técnica de difusão em poço no ágar, com o extrato metanólico da espécie

Sideroxylon obtusifolium (Quixabeira), quando testada a maior concentração (350 µg/mL). Os microrganismos avaliados foram três espécies de *Candida*.

Olakunle, et al., (2019) empregaram o mesmo método, de difusão em poço de ágar para avaliar extratos obtidos a partir de cascas de frutas, sendo a concentração utilizada de 100mg/mL. Os resultados encontrados exibiram que o extrato das cascas de banana foi mais efetivo no combate de fungos que contaminam plantas e alimentos (*Aspergillus niger* e *Alternaria alternata*). A zona de inibição exibiu $6,83 \pm 0,33$ cm de atividade antifúngica contra *A. niger* e $1,37 \pm 0,67$ cm contra *A. alternata*.

Tabela 10 – Halos de inibição dos extratos das plantas de *Eugenia uniflora* e *Syzygium cumini* frente a *Fusarium oxysporum*

Vegetal	Parte da planta	Solvente	Halos de Inibição (mm)/concentração		
			mg/mL		
			800	600	400
<i>Syzygium cumini</i>	Folhas	Hexano	8,71	7,89	-
<i>Eugenia uniflora</i>	Folhas	Metanol	10,8	7,44	8,03
<i>Eugenia uniflora</i>	Cascas	AcOEt	9,7	8,3	7,2
Antifúngico Tenaz				30,42	

Fonte: autor.

De acordo com Perreira et al., (2022), o método de difusão em ágar está entre os métodos de atividade utilizados com frequência em laboratórios. Porém, segundo os autores, existem fatores que podem influenciar no resultado final, dentre os motivos está a falta de padronização das metodologias empregadas entre os laboratórios, isso tende a causar interferência nos testes. Por isso é interessante o desenvolvimento de protocolos específicos que pudessem ser empregados de forma ampla quando envolver pesquisa com extratos vegetais e óleos essenciais.

Amparo, et al., (2018), concordam com esse ponto, além disso, os autores pontuam que é necessário seguir um padrão metodológico quando a pesquisa envolver material de origem vegetal, visto que isso pode evitar que variáveis possam interferir nos dados obtidos a partir dos testes de atividade. Entre as dificuldades visualizadas pelos autores estão: a espessura

do meio de cultura; quantidade de material (óleo/extrato) depositado; características químicas da amostra a ser testada; tipo de meio de cultura utilizado, entre outros.

Shivanna e Garampalli (2014), realizaram o teste de difusão em poço, avaliando extratos de líquens contra *Fusarium oxysporum*, os solventes extratores foram metanol acetato de etila e acetona. Dentre esses, o extrato metanólico foi o que exibiu a formação de maiores halos de inibição ($21,3 \pm 1,5\text{mm}$). Por ser um solvente de alta polaridade, alguns compostos tendem a ter uma maior afinidade fazendo com que o resultado da extração apresente uma maior variedade de metabólitos.

Milani et al., (2016), ao empregar a técnica de disco e de poço em ágar, observaram que os resultados foram bastante diferentes, comparando as duas metodologias. Os resultados após o período de incubação foram melhores utilizando o teste de difusão em poço, foram avaliados extratos de *Allium sativum*, no combate a bactérias e leveduras.

6 CONCLUSÕES

A obtenção dos extratos vegetais de diferentes polaridades foi um dos objetivos específicos propostos na pesquisa, e os resultados mostraram que, com relação ao rendimento do material vegetal após extração, para a espécie *Syzygium cumini* o maior rendimento foi para o extrato metanólico das folhas com (7,5%) e das cascas com (11,7%). Para *Eugenia uniflora*, o maior rendimento foi observado também foi para o solvente metanol, das folhas com (13,5%) de rendimento, seguido das cascas, com (5,1%) em termos de quantidade.

Relacionando os resultados da caracterização fitoquímica das duas espécies vegetais analisadas com os testes de atividade antifúngica pôde ser verificado que, através dos testes de screening fitoquímico e CCD (Cromatografia em Cadada Delgada), o extrato das folhas da espécie *Eugenia uniflora* exibiram compostos fenólicos, saponinas, taninos hidrolisáveis, terpenos e esteroides. Nas cascas podemos observar a existência de taninos hidrolisáveis, compostos fenólicos, triterpenos e esteroides. Para o jambolão, o extrato hexânico das folhas, o que apresentou ação antifúngica, exibiu taninos hidrolisáveis, flavonoides, triterpenos e esteroides.

Os objetivos relacionados à proposta de realização de métodos qualitativos de caracterização fitoquímica por *Screennig* (ensaio colorimétrico) e CCD foram realizados, e os dados evidenciaram que, os metabólitos secundários encontrados já são relatados na literatura como substâncias bioativas capazes de apresentar ação antifúngica e antimicrobiana.

Acerca dos resultados dos doseamentos de compostos (teste quantitativo), o extrato hexânico das folhas do jambolão exibiram alto teor de flavonoides. Os extratos hexânico e acetato de etila das cascas da pitanga revelaram elevado teor de flavonoides e o extrato metanólico das folhas exibiram um alto teor de fenóis. Vale ressaltar novamente que, os metabólitos secundários que foram detectados tanto nos testes fitoquímicos qualitativos quanto pelo método quantitativo revelam que, a ação antifúngica exercida sobre o microrganismo avaliado teve relação direta com a composição química do material vegetal das duas espécies frutíferas.

Dessa forma, conclui-se que os quatro extratos vegetais que demonstraram ter um maior potencial de atividade antifúngica, são promissores para a realização de testes mais robustos *in vitro* no combate de *Fusarium oxysporum*, levando em consideração o perfil fitoquímico dos extratos analisados. Ensaio de sinergismo com antifúngicos de uso comercial, também podem ser empregadas como estratégia para o desenvolvimento de um produto a base de produtos naturais, levando em consideração todas as problemáticas ambientais envolvendo o uso massivo de produtos químicos de forma extensiva.

Referências

Aguiar, C. E. R.; Medeiros, H. I. R.; SILVA, B. B. M.; FERREIRA, F. M. S.; FERNANDES, N. D.; BRITO, T. A. M.; MOURA, E. P. O estado da arte de derivados da Lausona. Braz. J. of Develop., Curitiba, v. 6, n. 8, p. 57998-58006 aug. 2020.

AHMED, R.; TARIQ, M.; HUSSAIN, M.; ANDLEEB, A.; MASOUD, M.S.; ALI, I.; MRAICHE, F.; HASAN, A. Phenolic contents-based assessment of therapeutic potential of *zygium cumini* leaves extract. . PLoS ONE 14(8): e0221318. August 29, 2019.

AKULA, R.; RAVISHANKAR, G. A. Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. Plant Signaling & Behavior 6:11, 1720-1731; November 2011.

ALMEIDA, J. C. S.; RODRIGUES, T. S.; SOUZA, K. F.; RODRIGUES-DAS-DORES, R. G.; NAGEM, T. J. Detecção de capsaicina em extratos dos frutos verdes e maduros de *Capsicum baccatum* L. pelas metodologias de cromatografia em camada delgada e histoquímica. INFARMA CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, v27.e2..pp106-111, 2015.

Almeida, Mara Zélia de. Plantas medicinais / Mara Zélia de Almeida. - 3. ed. - Salvador : EDUFBA, 2011.

AMORIM, A. F. V. Química - Métodos Cromatográficos, 1ª Edição, 2019.

AMPARO, T. R.; BRAGA, V. C. C.; SEIBERT, J. B.; SOUZA, G. H. B.; TEIXEIRA, L. F. M. Métodos para avaliação in vitro da atividade antimicrobiana de plantas medicinais: a necessidade da padronização. *Infarma - Ciências Farmacêuticas*. v3, pp50-59, 2018.

ANDRADE, B. N.; PINHEIRO, J. F.; OLIVEIRA, E. M. A IMPORTÂNCIA DA PRODUÇÃO ORGÂNICA PARA A SAÚDE HUMANA E O MEIO AMBIENTE. *South American Journal of Basic Education, Technical and Technological*. Vol. 1 N. 1, p. 227-233, 2017.

ANTONELO, F. A.; RODRIGUES, M. S.; CRUZ, L. C.; PAGNONCELLI, M. G.; CUNHA, M. A. A.; BONATTO, S. J. R.; BUSSO, C.; AMÉRICO JÚNIOR, W.; MONTANHER, P. F. Bioactive compounds derived from Brazilian Myrtaceae species: Chemical composition and antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 48, 102629. (2023).

APARECIDO, C. C.; ROSA, E. C. AVALIAÇÃO MORFOLOGIA E MOLECULAR PARA IDENTIFICAÇÃO DE FUSARIUM SP. *Biológico, São Paulo*, v81, p.1-7, 2019.

AURICCHIO, M. T.; BACCHI, E. M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 62(1): 55 - 61, 2003.

Aziz A, Banerjee S; Phytochemical Screening and Antibacterial Activity study of *Syzygium cumini* (Myrtaceae) Seed Extracts; *PharmaTutor*; 6(4); 70-73; 2018.

BAKA, Z. A. M., El-Din, M. M. N., Abodobara, M. I., El-Menyer, F. E. Y. In vitro, evaluation of some medicinal plants extracts against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Scientific Journal for Damietta Faculty of Science* 6 (1), 20-27, 2016.

BAKA, Z. A. M.; El-Din, M. M. N.; Abodobara, M. L.; El-Menyer, F. E. Y. In vitro, evaluation of some medicinal plants extracts against *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. *LYCOPERSICI*. *SCIENTIFIC JOURNAL FOR DAMIETTA FACULTY OF SCIENCE* 6 (1), 20-27, 2016.

BAKR, R. O.; MOHAMED, S. A.; WALY, N. E. PHYTOCHEMICAL and biological investigation of *Eugenia uniflora* L. cultivated in Egypt. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Vol. 9(5), pp. 57-66, May 2017.

BALBINOT, S. et al. Reconhecimento e uso de plantas medicinais pelos idosos do Município de Marmeleiro – Paraná. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.15, n.4, supl.I, p.632-638, 2013.

BALDÉ, M. A.; TUENTER, E.; TRAORÉ, M. S.; MATHEEUSSEN, A.; COS, P.; MAES, L.; CAMARA, A.; HABA, N. L.; GOMOU, K.; DIALLO, M. S. T.; BALDÉ, E. S.; PIETERS, L.; BALDE, A. M. Antimicrobial investigation of ethnobotanically selected guinean plant species. *Journal of Ethnopharmacology* 263, 2020.

BARBIERE, T. P. O. M.; PAIVA, G. F.; SILVA, B. V. S.; SOUZA, G. H. S.; GONÇALVES, F. J. T. Efeito de Óleos Essências Sobre o Crescimento Micelial in Vitro, de *Fusarium solani*. *Cadernos de Agroecologia – ISSN 2236-7934 – V. 13, N. 2, Dez, 2018*.

BARBOSA, H. M.; ALBINO, A. M.; CAVALCANTE, F. S.; LIMA, R. A. ABORDAGEM FITOQUÍMICA DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS EM *Solanum acanthodes*

(SOLANACEAE) HOOK. SOUTH AMERICAN Journal of Basic Education, Technical and Technological, Vol. 4 N. 1, p. 30-41, 2017.

BARROS, A. M.; FERREIRA, T. P. S.; MOURÃO, D. S. C.; AGUIAR, R. W. S.; SANTOS, G. R. Levantamento e uso de plantas medicinais do cerrado tocantinense para o controle alternativo de fitopatógenos. Journal of Biotechnology and Biodiversity. v.7. n.3; 2019

BATISTA, T. N.; CORRÊA, T. A.; SILVA, N. C.; MELO, L. P. ANÁLISES DE PARABENOS EM PRODUTOS COSMÉTICOS EMPREGANDO A CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA E TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA. TECNO-LÓGICA, Santa Cruz do Sul, v. 24, n. 2, p. 202-207, jul./dez. 2020.

BEG, A., BEG, M. J. ANTIFUNGAL ACTIVITY OF SOME COMMON MEDICINAL PLANTS AGAINST *Fusarium lycopersici*. Indian J.Sci.Res. 20(2): 43-45, 2018.

BERGAMIM FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. MANUAL DE FITOPATOLOGIA, 3 ed, 1995.

BERTERO, A.; MORETTI, A.; SPICER, L. J.; CALONI, F. Review *Fusarium* Molds and Mycotoxins: Potential Species-Specific Effects. Toxins, 10, 244, 2018.

BESUFEKAD, S., MEKDES, M., ABEBECH, M., DELESA, D., TEKALIGN, D., DEMITU, K., BIRTUKAN, B. THE ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LEAF EXTRACTS OF *MYRTUS COMMUNIS*. JOURNAL OF OJ Microbial & Biochemical Technology, Volume 9(6): 290-292 (2017).

BEZERRA, J. E. F.; LIRA JÚNIOR, J. S.; SILVA JÚNIOR, J. F. Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial : plantas para o futuro : região Nordeste [recurso eletrônico] / Editores Lidio Coradin, Julcéia Camillo, Frans Germain Corneel Pareyn; Ministério do Meio Ambiente, Secretaria de Biodiversidade. – Brasília, DF: MMA, 2018.
BEZERRA, L. A.; CALLADO, C. H.; CUNHA, M. Does an urban environment affect leaf structure of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)?. Acta Botanica Brasilica - 34(2): 266-276. April-June 2020.

BITTENCOURT, A. H. C.; Machado, J. S.; SILVA, M. G.; Cosenza, B. A. P. Evaluation preliminary phytochemistry and antimicrobial activity of extracts in *Eugenia uniflora* L. on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Research, Society and Development, v. 10, n. 13, e329101320579, 2021.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS SECONDARY PLANT METABOLITES. Revista Agrotecnologia, Ipameri, v.11, n.1, p.54-67, 2020.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DE PLANTAS. Revista Agrotecnologia, Ipameri, v.11, n.1, p.54-67, 2020.

Bragantia, Campinas, v.74, n. 1, p.84-92, 2015.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopéia Brasileira, 6º edição. Vol.1. Insumos farmacêuticos e especialidades. Brasília - DF: ANVISA, 2019. Disponível em:

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira/insumosfarmaceuticos-e-especialidades-com-capa.pdf>. Acessado em: Jun. 2023.

BRATT, P. R.; PATEL, U. D.; MODI, C. M.; PANDYA, K. B.; PATEL, H. B. Thin-layer chromatography and in vitro free radical scavenging activity of few medicinal plants from the surroundings of Junagadh, Gujarat, India. *Annals of Phytomedicine: An International Journal*. 8(1): 45-55, 2019.

CALBAZAR, A.; FONSECA-KRUEL, V. S.; MARTINS, L.; MILLIKEN, W.; NESBITT, M. Manual de etnobotânica : plantas, artefatos e conhecimentos indígenas. -- São Paulo : Instituto Socioambiental ; São Gabriel da Cachoeira, AM : Federação das Organizações Indígenas do Rio Negro (FOIRN), 2017.

CARTAXO-FURTADO, N.A.D.E.O.; SAMPAIO, T.O.; XAVIER, M.A.; MEDEIROS, A.D.D.E.; PEREIRA, J.V. Perfil fitoquímico e determinação da atividade antimicrobiana de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae) frente a microrganismos bucais. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.17, n.4, supl. III, p.1091-1096, 2015.

CASSAL, V. B.; AZEVEDO, L. F.; FERREIRA, R. P.; SILVA, D. G.; SIMÃO, R. S. Agrotóxicos: uma revisão de suas consequências para a saúde pública. *REGET - V. 18 n. 1.*, p.437-445, Abr. 2014.

Castillo-Henríquez.; Alfaro-Aguilar, k.; Ugalde-Álvarez, j.; Vega-Fernández, L.; Oca-Vásquez, G. M.; Vega-Baudrit, J. R. Review Green Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles from Plant Extracts and Their Possible Applications as Antimicrobial Agents in the Agricultural Area. *Nanomaterials*, 10, 1763, 2020.

CEOLIN, T. et al. Contribuições do curso de plantas medicinais realizado por uma instituição de ensino do sul do Brasil. *Rev. Ciênc. Ext.* v.13, n.4, p.77-90, 2017.

CÉSPEDES, C. L.; ALARCON, J. Biopesticidas de origen botánico, fitoquímicos y extractos de Celastraceae, Rhamnaceae y Scrophulariaceae. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 10, núm. 3, mayo, pp. 175-181, 2011.

CHAGAS, F. ; POLONIO, J. C.; Ruvolo-Takasusuki, M. C. C.; PAMPHILE, J. A.; CONTE, H. Controle biológico em sistema orgânico de produção por agricultores da cidade de Maringá (Paraná, Brasil). *Ciência e Natura*, Santa Maria v.38 n.2, Mai.- Ago. p. 637 – 647, 2016.

Chaudhary, S.; KANWAR, R. K.; SEHGAL, A.; CAHILL, D. M.; BARROW, C. J.; SEHGAL, R.; KANWAR, J. R. Progress on *Azadirachta indica* Based Biopesticides in Replacing Synthetic Toxic Pesticides. *Front. Plant Sci.* 8:610. 2017.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard, 2nd ed. CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

COCK, I. E.; CHEESMAN, M. PLANTS OF THE GENUS *SYZYGIUM* (MYRTACEAE): A REVIEW ON ETHNOBOTANY, MEDICINAL PROPERTIES AND PHYTOCHEMISTRY, CHAPTER 3. Book *Bioactive Compounds of Medicinal Plants*, 1a edição, 2018.

CORRÊA, J. C. R. SALGADO, H. R. N. Atividade inseticida das plantas e aplicações: revisão. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.13, n.4, p.500-506, 2011.

COSTA, A. F. *Farmacognosia*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2ª Ed., v. III, 1982.

COSTA, C. A.; GUINÉ, R.; CORREIA, H. E.; COSTA, D. T.; COSTA, T.; PARENTE, C.; PAIS, C.; GOMES, M.; AGUIAR, A. A. R. M. Agricultura familiar e proteção das culturas: abordagens tradicionais e proximidade com práticas de agricultura biológica. *Revista de Ciências Agrárias*, 41(Especial): 164-173, 2018.

COSTA, J. S.; CRUZ, E. N. S.; SETZER, W. N.; SILVA, J. K. R.; MAIA, J. G. S.; FIGUEIREDO, P. L. B. Review Essentials Oils from Brazilian *Eugenia* and *Syzygium* Species and Their Biological Activities. *Biomolecules*, 10, 1155. 2020.

COSTA, N. C.; CHAGAS JUNIOR, A. F.; RAMOS, A. C. C.; SOARES, L. P.; SCHEIDT, G. N. Atividade antimicrobiana e análise fitoquímica preliminar do extrato vegetal de alho no controle de fungos fitopatogênicos. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável* V.12, Nº 1, p. 161-166, 2017.

CUNHA, A. L.; MOURA, K. S.; BARBOSA, J. C.; SANTOS, A. F. Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. *Diversitas Journal*, Volume 1, Número 2, pp: 175-181, 2016.

DANIEL, G.; KRISHNAKUMARI, S. QUANTITATIVE ANALYSIS OF PRIMARY AND SECONDARY METABOLITES IN AQUEOUS HOT EXTRACT OF *EUGENIA UNIFLORA* (L.) LEAVES. *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 8, Issue 1, 334-338, 2015.

De Bona, E. A. M.; Pinto, F. G. S.; Fruet, T. K.; Jorge, T. C. M.; Moura, A. C. Comparação de métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima (cim) de extratos vegetais aquosos e etanólicos. *Arq. Inst. Biol., São Paulo*, v.81, n.3, p. 218-225, 2014.

Deepa, N.; Achar, P. N.; Sreenivasa, M. Y. Review Current Perspectives of Biocontrol Agents for Management of *Fusarium verticillioides* and Its Fumonisin in Cereals—A Review. *JOURNAL OF FUNGI*, 2021.

Dhaouadi, s., Rouissi, w., Mougou-Hamdane, a., Hannachi, i., NasrAOUI, B. ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS OF *ORIGANUM MAJORANA* AND *LAVENDER ANGUSTIFOLIA* AGAINST *FUSARIUM WILT* AND *ROOT ROT DISEA. SE OF MELON PLANTS*. *TUNISIAN JOURNAL OF PLANT PROTECTION*, VOL. 13, NO 1, 2018.

DOLABELA, M. F.; DA SILVA, A. R. P.; OHASHI, L. H.; BASTOS, M. L. C.; DA SILVA, M. C. M.; VALE, V. V. Estudo in silico das atividades de triterpenos e iridoides isolados de *Himatanthus articulatus* (Vahl) Woodson. *Revista Fitos. Rio de Janeiro*; 12(3): 227-242, 2018.

DOMINGOS, M. M.; MELLONI, R.; REIS FERREIRA, G. M. EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DO FUNGO *FUSARIUM OXYSPORUM* E SEU EFEITO SOBRE FUNGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EM PLANTAS DE MILHO. *Revista Brasileira de Agroecologia* | Vol. 16 | Nº 6 | p. 133, Ano 2021.

Enhancement of the Antifungal Activity of Antimicrobial Drugs by *Eugenia uniflora* L. Espinel-Ingroff A, Bartlett M, Bowden R, et al. Multicenter evaluation of proposed standardization procedure for antifungal susceptibility testing for filamentous fungi. *J Clin Microbiol*; 35:139- 143, 1997.

EVERTON, G. O.; SANTOS JÚNIOR, P. S.; SALES, E. H.; ROSA, P. V. S.; SANTANA DIAS, A. A.; DUARTE, R. V. S.; SOUZA, L. S.; ARAÚJO NETO, A. P.; SOUZA, L. S.; SANTOS, M. B. L.; LAGES, M. G. G.; MOUCHREK FILHO, V. E. Essential oils of the leaves of *Syzygium cumini* (L.) Skeels and fruit peels of *Hymenaea courbaril* (L.) var. *courbaril* as molluscicides against *Biomphalaria glabrata*. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 10, e1239108215, 2020.

FALCÃO, T. R.; ARAÚJO, A. A.; SOARES, L. A. L.; RAMOS, R. T. M.; BEZERRA, I. C. F.; FERREIRA, M. R. A.; SOUZA NETO, M. A.; MELO, M. C. N.; ARAÚJO JR, R. F.; GUERRA, A. C. V. A. MEDEIROS, J. S.; GUERRA, G. C. B. Crude extract and fractions from *Eugenia uniflora* Linn leaves showed anti-inflammatory, antioxidant, and antibacterial activities. *BMC Complementary and Alternative Medicine* (2018).

FANOU, B. A.; KLOTUE, J. R.; FAH, L.; DOUGNON, V.; Koudokpon, C. H.; TOKO, G.; LOKO, F. Ethnobotanical survey on plants used in the treatment of candidiasis in traditional markets of southern Benin. *BMC Complementary Medicine and Therapies* (2020).

FERNANDES, P. A. S.; PEREIRA, R. L. S.; SANTOS, A. T. L.; COUTINHO, H. D. M.; MORAIS-BRAGA, M. F. B.; SILVA, V. B.; COSTA, A. R.; GENERINO, M. E. M.; OLIVEIRA, M. G.; MENEZES, S. A.; SANTOS, L. T.; SIYADATPANAH, A.; Wilairatana, P.; PORTELA, T. M. A.; GONÇALO, M. A. B. F.; ALMEIDA-BEZERRA, J. W. Phytochemical Analysis, Antibacterial Activity and Modulating Effect of Essential Oil from *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Molecules*, 27, 3281, 2022.

FERREIRA, E. C.; ANSELMO, M. G. V.; GUERRA, N. M.; CATTLEYA, C. M. L.; FELIX, C. M. P.; BUSSMANN, R. W.; PANIAGUA-ZAMBRANA, N. Y.; LUCENA, R. F. P. Local Knowledge and Use of Medicinal Plants in a Rural Community in the Agreste of Parai'ba, Northeast Brazil. *Hindawi*, Volume 2021.

FERREIRA, M. R. A.; SANTIAGO, R. R.; LANGASSNER, S. M. Z.; MELLO, J. C. P.; SVIDZINSKI, T. I. E.; SOARES, L. A. L. Antifungal activity of medicinal plants from Northeastern Brazil. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 7(40), pp. 3008-3013, 25 October, 2013.

FIGUEIRÊDO, C. B. M.; ALVES, L. D. S.; SILVA, C. A. R.; SOARES, M. F. L. R.; SILVA, R. M. F.; ROLIM-NETO, P. J. Doseamento de flavonoides totais das partes aéreas de *Thuja occidentalis* Linn. (Cupressaceae). *Rev Ciênc Farm Básica Apl.*, 36(4):509-516, 2015.

GAKUUBI, M. M., MAINA, A. W., WAGACHA, J. M. Antifungal Activity of Essential Oil of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. against Selected *Fusarium* spp. *Hindawi International Journal of Microbiology*, 2017.

GANDHI, S. G.; MAHAJAN, V.; BEDI, Y. S. Changing trends in biotechnology of secondary metabolism in medicinal and aromatic plants. *Planta*, 241:303–317, 2015.

GARMUS, T. T.; KOPF, S. F. M.; PAULA, J. T.; AGUIAR, A. C.; DUARTE, G. H. B.; EBERLIN, M. N.; CABRAL, F. A. ETHANOLIC AND HYDROALCOHOLIC EXTRACTS OF PITANGA LEAVES (*Eugenia uniflora* L.) AND THEIR FRACTIONATION BY SUPERCRITICAL TECHNOLOGY. Vol. 36, No. 02, pp. 1041 - 1051, April - June, 2019.

GASPAROTTO, L.; RODRÍGUEZ, M. A. D.; ALEXANDRE, J. R.; SCHURT, D. A.; LEITE, R. S. V. *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* raça 4 tropical Perigo para a bananicultura nacional. EMBRAPA, 2020.

Georgacopoulos O.; Nunnally, N. S.; Ransom, E. M.; Law, D.; Birch, M.; Lockhart, S. R.; Berkow, E. L. In Vitro Activity of Novel Antifungal Olorofim against Filamentous Fungi and Comparison to Eight Other Antifungal Agents. *J. Fungi*, 7, 378, 2021.

GIFTA, J. S.; CHANDRA, J. H. DISINFECTANT PRODUCTION USING SYZYGIUM CUMINI SEED EXTRACT BY ANALYZING AND CHARACTERIZING ITS PROPERTIES. *IJARIE-ISSN(O)-2395-4396*, Vol-5 Issue-2 2019.

González-Blas, M.; García-Armas, J.; Herrera- Gutiérrez, L. Flavonoides y Fenoles totales con actividad hipoglicemiante en semillas de *Syzygium jambos*. *Rev. Salud. Amaz. Bienestar*. 1(1): e272; ene-jun, 2022.

GOWRI, S. S. AND VASANTHA, K. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Syzygium cumini* (L.) (Myrtaceae) Leaves Extracts. *International Journal of PharmTech Research CODEN (USA): IJPRIF ISSN : 0974-430*, Vol.2, No.2, pp 1569-1573, April-June 2010.

GUIMARÃES, L. P.; SILVA, T. G.; ALVES, D. R. RACHEL CARSON SALVA A BRANCA DE NEVE: PROPOSTA DE ESTRATÉGIA DIDÁTICA ENVOLVENDO O TEMA AGROTÓXICO NA EDUCAÇÃO BÁSICA. *Journal of Education, Science and Health – JESH*; e-ISSN: 2763-6119, v. 1, n. 1, p. 1-12, jan./mar., 2021.

GUPTA, M.; SHARMA, S.; BHADAURIA, R. Fungitoxic activity of fruit extracts of *Syzygium cumini* (L.) Skeels against plant pathogenic fungi *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. Volume 48, 2015.

HAGGAG, M.W., ABOU EL ELLA, S.M.; ABOUZIENA, H.F. PHYTOCHEMICAL ANALYSIS, ANTIFUNGAL, ANTIMICROBIAL ACTIVITIES AND APPLICATION OF *Eichhornia crassipes* AGAINST SOME PLANT PATHOGENS. *Planta Daninha*, v35, 2017.

HALFELD-VIEIRA, B. A.; MARINHO- PRADO, J.S.; NECHET, K. L.; MORANDI, M. A. B.; BETTIOL, W. *Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas*, Brasília, DF: Embrapa, 2016.

HAMINIUK, C. W. I.; PLATA-OVIEDO, M. S. V.; MATTOS, G.; CARPES, S. T.; BRANCO, I. G. EXTRACTION AND QUANTIFICATION OF PHENOLIC ACIDS AND FLAVONOLS FROM *EUGENIA PYRIFORMIS* USING DIFFERENT SOLVENTS. *J FOOD SCI TECHNOL* 51(10):2862–2866, (OCTOBER 2014).

Hardstaff, L. K.; Sommerville, K. D.; Funnekotter, B.; BUNN, E.; OFFORD, C. A. Myrtaceae in Australia: Use of Cryobiotechnologies for the Conservation of a Significant Plant Family under Threat. *Plants*, 11, 1017.2022.

HASSAN, A.S.; AL-HATMI, A. M. S.; SHOBANA, C. S.; DIEPENINGEN, A. D.; KREDICS, L.; VÁGVÖLGYI, C.; HOMA, M.; MEIS, J. F.; HOOG, G. S.; NARENDRAN, V., MANIKANDAN, P.; GROUPEL, I. W. Antifungal Susceptibility and Phylogeny of Opportunistic Members of the Genus *Fusarium* Causing Human Keratomycosis in South India. *Medical Mycology*, Vol. 54, No. 3, 2016.

HENRIQUE, F. H.; CARBONELL, S. A. M.; ITO, M. F.; GONÇALVES, J. G. R.; SASSERON, G. R.; CHIORATO, A. F. Classification of physiological races of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in common bean.

HERKERT, P. F.; Al-Hatmi, A. M.; SALVADOR, G. L. O.; MURO, M. D.; PINHEIRO, R. L.; NUCCI, M.; TELLES, F. Q.; HOOG, S.; MEIS, J. F. Molecular Characterization and Antifungal Susceptibility of Clinical *Fusarium* Species From Brazil. *FRONTIERS IN MICROBIOLOGY*, 2019.

HERRERA, G. P.; BERNARDES, F. S.; COSTA, R. B.; SILVA, B. A.; MENDES, D. R. F.; CONSTANTINO, M. Rural public policies and the state of smallholders: Recent evidence from Brazil. *African Journal of Agricultural Research*, Vol. 13(35), pp. 1857-1864, 30 August, 2018.

HOU, D.; O'CONNOR, D.; IGALAVITHANA, A. D.; ALESSI, D. S.; LUO, J.; TSANG, D. C. W.; SPARKS, D.; YAMAUCHI, Y.; RINKLEBE, J.; OK, Y. S. Metal contamination and bioremediation of agricultural soils for food safety and sustainability. *Nature Reviews | Earth & Environment*, 1, pages 366–381 (2020).

HUSSAIN FAISAL., ABID MUHAMMAD., SHAUKAT S SHAHID., FARZANA AND AKBAR MUHAMMAD. ANTI-FUNGAL ACTIVITY OF SOME MEDICINAL PLANTS ON DIFFERENT PATHOGENIC FUNGI. *Pak. J. Bot.*, 47(5): 2009-2013, 2015.

ISMAN, M. B. BOTANICAL INSECTICIDES IN THE TWENTY-FIRST-CENTURY- FULFILLING THEIR PROMISE?. *ANNUAL REVIEW OF ENTOMOLOGY*. 2020.

ISSAC, G. S.; ABU-TAHON, M. A. IN VITRO ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MEDICINAL PLANT EXTRACTS AGAINST *FUSARIUM OXYSPORUM* F. SP. LYCOPERSICIRACE 3 THE CAUSAL AGENT OF TOMATO WILT. *Acta Biologica Hungarica* 65(1), pp. 107-118 (2014).

ITANKAR, P. R.; SAWANT, D. B.; TAUQEER, M.; CHARDE, S. S. High performance thin layer chromatography fingerprinting, phytochemical and physico-chemical studies of anti-diabetic herbal extracts. *AYU (An International Quarterly Journal of Research in Ayurveda)*, Vol 36 | Issue 2. Apr-Jun 2015.

Jagapriya, L.; Saranya, S. IDENTIFICATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS AND PHARMACOGNOSTIC EVALUATION OF *SYZYGIUM CUMINI* (L.) AND *SYZYGIUM*

AROMATICUM (L.) BY GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY ANALYSIS. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Vol 9, Issue 7, 2020.

JOURNAL OF MEDICINAL FOOD, 2013.

JULIE, A. S.; SULTANA, T.; LABONI, F. R.; KARIM, S.; LABU, Z. K. IN-VITRO INVESTIGATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF THE AERIAL PART OF *Syzygium cumini*. International journal of Applied Pharmaceutical and Biological Research,; 2(2):34-38, 2017.

KABERA, J. N.; SEMANA, E.; MUSSA, A. R.; HE, X. Plant Secondary Metabolites: Biosynthesis, Classification, Function and Pharmacological Properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology 2, 377-392, 2014.

KAUFFMANN, C.; SOARES, A. P. V.; AROSSI, K.; PACHECO, L. A.; BUHL, B.; FREITAS, E. M.; HOEHNE, L.; CASTRO, L. C.; GNOATTO, S. C. B.; ETHUR, E. M. POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIBIOFILME IN VITRO DE ESPÉCIES DO GÊNERO EUGENIA, MYRTACEAE, NATIVAS DO SUL DO BRASIL. CADERNO PEDAGÓGICO, LAJEADO, V. 14, N. 2, P. 110-127, 2017.

Kavitha, K. S., Satish, S. Bioprospecting of some medicinal plants explored for antifungal activity. Pharmacognosy Journal, Vol 8, Issue 1, Jan-Feb, 2016.

KHANDARE, K.; VASAIT, R. D. USE OF BIOPOTENTIALS OF PLANT EXTRACTS OF MEDICINAL IMPORTANCE AGAINST PATHOGENIC FUNGI FUSARIUM OXYSPORUM. BIOSCIENCE DISCOVERY, 8(1):87-92, JAN. - 2017.

Khieya, v., simon, s. a lal, a. Effect of botanical extracts against *Fusarium oxysporum* and *Meloidogyne incognita* (J2). The Pharma Innovation Journal; 7(6): 297-302, 2018.

KOTAN, R.; DADASOGLU, F.; KARAGOZ, K.; CAKIR, A.; KORDALI, S.; CAKMACI, R.; DIKBAS, N. Antibacterial activity of the essential oil and extracts of *Satureja hortensis* against plant pathogenic bacteria and their potential use as seed disinfectants. Scientia Horticulturae 153, p. 34–41. (2013) .

LANZA, T. R.; MING, L. C.; HAVERRROTH, M.; FERREIRS, S. B. ETNOBOTÂNICA NO ACRE: TRÊS DÉCADAS DE PESQUISAS CIENTÍFICAS REALIZADAS NO ESTADO (1990-2020). ETHNOSCIENTIA V. 4, 2019.

LAZAROTTO, M. IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE *Fusarium* spp. e *Pestalotiopsis* spp. ASSOCIADOS A *Carya ollinoensis* NO RIO GRANDE DO SUL. 2013.

LAZZAROTTO-FIGUEIRÓ, J.; CAPELEZZO, A. P.; SCHINDLER, M. S. Z.; FOSSÁ, J. F. C.; ALBENY-SIMÕES, D.; ZANATTA, L.; OLIVEIRA, J. V.; DAL MAGRO, J. Antioxidant activity, antibacterial and inhibitory effect of intestinal disaccharidases of extracts obtained from *Eugenia uniflora* L. Seeds. Braz. J. Biol., vol. 81, no. 2 pp.291-300, 2021.

LEÃO, L. A. C.; GABARDO, M. C. L.; GOMARA, F. L. Estudo fitoquímico do guapê, *Syzygium cumini* (L.) Skeels. Acta Biol. Par., Curitiba, 43 (1-2): 41-52. 2014.

LEITE, K. ÓLEOS ESSENCIAIS NA INCIDÊNCIA DE FITOPATÓGENOS E QUALIDADE FISIOLÓGICA DE SEMENTES DE *Phaseolus vulgaris* L. DURANTE O ARMAZENAMENTO. 2017.

León Durán, M. D.; CÁRDENAS, M. X. M. ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE TARA (*Caesalpinia spinosa*) FRENTE A *Fusarium graminearum*. Revista de Investigación Agraria y Ambiental Vol. 12 No. 1, enero - junio de 2021.

Li, y.; KONG, D.; FU, Y.; SUSSMAN, M. R.; WU, H. The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 148, 80–89, 2020.

LIN, Y.; WANG, S.; ZHANG, J.; ZHUO, Z.; LI, X.; ZHAI, C.; LI, X.; QI, F.; CHEN, C.; ZHOU, J.; LIU, Q.; QIU, L. Ethnobotanical survey of medicinal plants in Gaomi, China. *Journal of Ethnopharmacology* 265, 2021.

LIRA, V. L. L.; SANTOS, A. C. S.; THIAGO, P. V.; OLIVEIRA, N. T.; MOURA, R. M. Hiperparasitismo de *Fusarium* spp. em *Austropuccinia psidii* em Jambo-do-Pará. *Summa Phytopathol., Botucatu*, v. 45, n. 2, p. 204-206, 2019.

LOMBARD, L.; SANDOVAL-DNIS, M.; LAMPRECHT, S. C.; CROUS, P. W. Epitypification of *Fusarium oxysporum* – clearing the taxonomic chaos. *Persoonia – Volume* 43, 2019.

LORENZETTI, E.; HELING, A. L.; CARVALHO, J.; FARIA, V. O.; FUJIMOTO, STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE VEGETAIS SOBRE DESENVOLVIMENTO DE *Macrophomina phaseolina* E INFLUENCIA DE MÉTODOS DE ESTERILIZAÇÃO. *Scientia Agraria Paranaensis.*, Marechal Cândido Rondon, v. 17, n. 1, jan./mar., p. 112-118, 2018.

M, A. Diversity of use and local knowledge of wild and cultivated plants in the Eastern Cape province, South Africa. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2017.

MACHADO, B. R. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: Uso de plantas medicinais no controle de doenças em plantas. 2019.

MAGALHÃES, P. K. A.; ARAÚJO, E. N.; SANTOS, A. M.; VANDERLEI, M. B.; SOUZA, C. C. C.; CORREIA, M. S.; FONSECA, S. A.; PAVÃO, J. M. J.; SOUZA, M. A.; COSTA, J. G.; SANTOS, A. F.; MATOS-ROCHA, T. J. Ethnobotanical and ethnopharmacological study of medicinal plants used by a traditional community in Brazil's northeastern. *Brazilian Journal of Biology*, vol. 82, 2022.

MAGIOLI, M.; MOREIRA, M. Z.; FONSECA, R. C. B.; RIBEIRO, M. C.; RODRIGUES, M. G.; DE BARROS FERRAZ, K. M. P. M. Human-modified landscapes alter mammal resource and habitat use and trophic structure. *PNAS* | September 10, 2019.

MARYANI, N.; SANDOVAL-DENIS, M.; LOMBARD, L.; CROUS, P. W.; KEMA, G. H. J. New endemic *Fusarium* species hitch-hiking with pathogenic *Fusarium* strains causing Panama disease in small-holder banana plots in Indonesia. *Persoonia* 43, 48 – 69, 2019.

MAZARO, S. M.; CITADIN, I.; GOUVÊA, A. LUCKMANN, D.; GUIMARÃES, S. S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.38, n.7, p.1824-1829, out, 2008.

MBUNDE, M. V. N.; INNOCENT, E.; MABIKI, F.; ANDERSSON, P. G. Ethnobotanical survey and toxicity evaluation of medicinal plants used for fungal remedy in the Southern Highlands of Tanzania. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 2016.

MEDEIROS, J. F.; ACAYABA, R. D.; MONTAGNER, C. C. A QUÍMICA NA AVALIAÇÃO DO IMPACTO À SAÚDE HUMANA DIANTE DA EXPOSIÇÃO AOS PESTICIDAS. *Quim. Nova*, Vol. 44, No. 5, 584-598, 2021.

Método de Referência para Testes de Diluição em Caldo para a Determinação da Sensibilidade a Terapia Antifúngica de Fungos Filamentosos; Norma Aprovada Volume 22 Número 16. M38-A

MEYER, J. M.; REZENDE, F. M.; SOARES, S. A.; TOMBA, A. C. B. BOTÂNICA NO INVERNO 2013. SÃO PAULO : INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO.

MICHEREFF, S.J. Fundamentos de Fitopatologia, 2001.

MICHEREFF. FUNDAMENTOS DE FITOPATOLOGIA, 2001.

MIGLIATO, K. F.; MOREIRA, R. R. D.; MELLO, J. C. P.; SACRAMENTO, L. V. S. CORRÊA, M. A.; SALGADO, R. N. Controle da qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy* 17(1): 94-101, Jan./Mar. 2007.

MILANI, H. L. A.; TEIXEIRA, A. X. V.; SOUSA, E. C.; ABREU, V. A.; NINAHUAMAN, M. F. M. L. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA IN VITRO DO ALHO (*ALLIUM SATIVUM*) IN NATURA. *Acta Scientia Biologica*. v. 1, n. 1, p. 47-58 2016.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 11a Edição, 2020. MINISTÉRIO DA SAÚDE. MONOGRAFIA DA ESPÉCIE *Eugenia uniflora* L. (PITANGUEIRA). 2015.

MITTAL, D. , KRITIKA NARANG, K.; LEEKHA, A.; KAPINDER KUMAR, K.; VERMA, A. K. Elucidation of Biological Activity of Silver Based Nanoparticles Using Plant Constituents of *Syzygium cumin*. *Int. J. Nanosci. Nanotechnol.*, Vol. 15, No. 3, pp. 189-198, Sept. 2019.

MOHAMED, A. A.; ALI, S. I.; EL-BAZ, F. K. Antioxidant and Antibacterial Activities of Crude Extracts and Essential Oils of *Syzygium cumini* Leaves. *PLOS ONE*, 2013.

MORAES, R. M.; CERDEIRA, A. L.; DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; CANTRELL, C.; QUEIROZ, S. C. N. Pesticidas Naturais Derivados de Plantas: Descoberta e Usos. Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas / Bernardo de Almeida Halfeld Vieira... [et al.], editores técnicos. Brasília, DF: Embrapa, 2016.

MORAIS, L. A. S. Óleos Essenciais no Controle Fitosanitário. Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas. Embrapa Meio Ambiente, Cap. 9. 2009.

MOURA, G. S.; PIETROBELLI, S. R.; OLIVEIRA, I. M. R.; OLIVEIRA, I. J.; FRANZENER, G. ÓLEO ESSENCIAL DE PITANGUEIRA NA GERMINAÇÃO E SANIDADE DE SEMENTES DE VARIEDADES CRIOULAS DE FEIJOEIRO. Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável (RBAS), v.7, n.3, p.48-55, Setembro, 2017.

NASCIMENTO E SANTOS, D.; SOUZA, L. L.; FERREIRA, N. J.; OLIVEIRA, A. L. Study of supercritical extraction from Brazilian cherry seeds (*Eugenia uniflora* L.) with bioactive compounds. food and bioproducts processing 94, 365–374, 2015.

NEVES, W. S.; LOPES, E. A.; FERREIRA, P. A. Controle alternativo de pragas e doenças: opção ou necessidade / editores técnicos Madelaine Venzon ... [et al.]. – Belo Horizonte: EPAMIG, p 118-124, 2021.

NIKOLAOU, P.; MARCINIAK, P.; ADAMSKI, Z.; NTALLI, N. REVIEW CONTROLLING STORED PRODUCTS' PESTS WITH PLANT SECONDARY METABOLITES: A REVIEW. AGRICULTURE, 11, 879, 2021.

NOGUEIRA, A. C. M.; AMARAL, A. M. S.; ANDRADE, J. M. S.; AVELAR, J. S.; GÓES, B. C. CRÉDITO RURAL E O DESEMPENHO DA AGRICULTURA NO BRASIL. REVISTA BRASILEIRA DE ENGENHARIA DE BIOSISTEMAS, v. 15, n. 1, p. 168-189, 2021.

OLAKUNLE, O. O.; BLESSING, D. J.; OKOSODO, J. I. Antifungal activity and phytochemical analysis of selected fruit peels. J Biol Med 3(1): 040-043, 2019.

OLIVEIRA, A. G.; MARTINS, W. S.; MURAISHI, C. T.; MICHELIN, L. H. F.; MENDES, W. D.; SILVA, I. M.; SOUZA, M. P.; MANDUCA SOBRINHO, C. A.; ADAMS, G. S.; FERREIRA, D. D. Transmissibilidade de *Fusarium* spp. em sementes de milho sob diferentes tempos de exposição. Research, Society and Development, v. 11, n. 16, e42111637785, 2022.

OLIVEIRA, D. S.; DIAS, E. A. P.; SANTOS, J. S. Plantas medicinais de uso tradicional na região sul paraense usadas durante a pandemia do Covid-19. Research, Society and Development, v. 11, n. 8, e16511830651, 2022.

OLIVEIRA, L. F. ; MAIOR, J. F. A. S.; DRESCH, R. R.; FARMACOGNOSIA PURA (RECURSO ELETRÔNICO), 2018.

OLIVEIRA, M. M.; MORATO, R. G.; JORGE, R. S. P.; DE PAULA, R. C. Agricultural activities and threat to fauna in Brazil: an analysis of the Red Book of Endangered Brazilian Fauna. Pap. Avulsos Zool., 2021.

OSÓRIO, A. C.; MARTINS, J. L. S. Determinação de cumarina em extrato fluido e tintura de guaco por espectrofotometria derivada de primeira ordem. Rev. Bras. Cienc. Farm. Braz. J. Pharm. Sci. v. 40, n. 4, 2004.

Palakurthi, S. S.; Jakka, D.; Pinnamraju, D. N. Preparation and Evaluation of Oral Thin Films of a Natural Product: *Syzygium cumini* seed powder. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics.*; 12(1-s):64-70, 2022.

PALMA, T. H. Análise do perfil de sensibilidade a antibióticos de cepas de *Streptococcus* pioneiras da cavidade bucal. 2013.

PATIL, S. S.; WAGHMARE, M. B. INIMICAL POTENTIAL OF *SYZYGIUM CUMINI* (L) SKEELS LEAF EXTRACT AGAINST *FUSARIUM OXYSPORUM* F.SP. *CHRYSANTHEMI* CAUSING WILT OF *CHRYSANTHEMUM*. EMERGING RESEARCH TRENDS IN LIFE SCIENCES, CHAPTER 24, 2015.

PERERA, P. R. D.; EKANAYAKE, S.; RANAWEERA, K. K. D. S. Antidiabetic Compounds in *Syzygium cumini* Decoction and Ready to Serve Herbal Drink. *Hindawi Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* Volume 2017.

PERREIRA, M. S. V.; RIBEIRO, A. D.; FIGUEIRÊDO JÚNIOR, E. C.; FREIRE, J. C. P.; COSTA, M. M. A.; PERREIRA, J. V. Estudo sobre métodos utilizados para a determinação da atividade antimicrobiana de extratos de plantas medicinais: elucidações e limitações das técnicas. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v.8, n.4, p.26085-26104, apr., 2022.

PIASECKA, A.; JEDRZEJCZAK-REY, N.; Ł BEDNAREK, P. Secondary metabolites in plant innate immunity: conserved function of divergent chemicals. *New Phytologist* , 206: 948–964, 2015.

Prakash, G. P. O., CHANDRA, M., SETHI, S., PUNETHA, H., DIXIT, S., PANT, A. Biochemical analysis, pharmacological activity, antifungal activity and mineral analysis in methanolic extracts of *Myrica esculenta* and *Syzygium cumini*: the Indian traditional fruits growing in Uttarakhand Himalaya. / *Indian J. Pharm. Biol. Res.*, 2(1):26-34, 2014.

PRASAD, R.; SWAMY, V. S. Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Synthesized by Bark Extract of *Syzygium cumini*. *Journal of Nanoparticles*, 2013.

PRATIWI, R. A., NURLAENI, Y. THE POTENCY OF MYRTACEAE FAMILY FROM CIBODAS BOTANIC GARDENS (CIANJUR, INDONESIA) AS BOTANICAL PESTICIDE. *B I O D I V E R S I T A S*, PAGES: 4648-4664, VOLUME 22, NUMBER 10, OCTOBER 2021.

DA SILVA FILHO, D. A. (Coordenador). *Química verde no Brasil: 2010-2030 - Ed. rev. e atual.* - Brasília, DF: Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, 2010.

RAMOS, D. P.; BARBOSA, R. M.; VIEIRA, B. G. T. L.; PANIZZI, R. C.; VIEIRA, R. D. Infecção por *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides* em sementes de milho. *Pesq. Agropec. Trop.*, Goiânia, v. 44, n. 1, p. 24-31, jan./mar. 2014.

RAMPERSAD, S. N. Spatial pattern of genetic diversity in field populations of *Fusarium incarnatum-equiseti* species complex. *Ecology and Evolution*. 2021.

Revista Fitos. Rio de Janeiro, 2022.

RIBEIRO, R. D.; ALVIANO, D. S.; BARRETO, D. W.; COELHO, M. A. Z. Functional properties of saponins from sisal (*Agave sisalana*) and juá (*Ziziphus joazeiro*): Critical micellar concentration, antioxidant and antimicrobial activities. *Colóides e Superfícies A: Aspectos Físico-Químicos e de Engenharia*, Elsevier v. 436, p.736-743, 2013.

Rodrigues, A. T. *Farmacognosia / Aline Teotonio Rodrigues*. – Londrina: Editora e Distribuidora Educacional S.A., 208 p. 2018.

ROSENBERGER, M. G.; AMATUZI, J. C. A.; Rosenberger, A. G.; ZONETTI, P. C.; PAULERT, R. ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATO DE Coix Lacryma-jobi SOBRE *Xanthomonas axonopodis* PV. *Manihotis* E *Fusarium graminearum*. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente, Maringá (PR)*, v13n1p135-148, 2020.

SAMIE, A.; MASHAU, F. Antifungal activities of fifteen Southern African medicinal plants against five *Fusarium* species. *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 7(25), pp. 1839-1848, 3 July, 2013.

SAMPAIO, T. S., CASTRO NIZIO, D. A., WHITHE, L. A. S., MELO, J. O., ALMEIDA, C. S., ALVES, M.F., GAGLIARDI, P. R., Arrigoni-Blank, M. F., Wisniewski Junior, A., SOBRAL, M. E. G., Blank, A. F. Chemical diversity of a wild population of *Myrcia ovata* Cambessedes and antifungal activity against *Fusarium solani*. / *Industrial Crops and Products* 86 196–209 (2016).

SAMY, M. N.; SUGIMOTO, S.; MATSUNAMI, K.; OTSUKA, H.; KAMEL, M. S. Bioactive compounds from the leaves of *Eugenia uniflora*. *Journal of Natural Products*, Vol. 7, 37- 47, 2014.

SANIT SAWATDIKARN, Antifungal activity of crude extracts of some medicinal plants against *Fusarium* sp., the pathogen of dirty panicle disease in rice. *Journal of Medicinal Plants Research*. Vol. 10(19), pp. 248-255, 17 May, 2016.

SANTANA, B. F.; VOEKS, R. A.; FUNCH, L. S. Ethnomedicinal survey of a maroon community in Brazil's Atlantic tropical forest. *Journal of Ethnopharmacology* 181, 2016.

SANTOS, K. K. A.; MATIAS, E. F. F.; TINTINO, S. R.; SOUZA, C. E. S.; BRAGA, M. F. B. M.; GUEDES, G. M. M.; COSTA, J. G. M.; MENEZES, I. R. A.; COUTINHO, H. D. M.

SANTOSO, P.; DEWI, N. L. K. A. A.; ADRIANTA, A. Antioxidant Capacity Profile of Dewandaru Leaf (Extract *Eugenia uniflora* L.): Part of Usadha Bali. *International Journal of Life Sciences*. Vol. 4 No. 1, pages: 87-98, April 2020.

SEEP, H. A., Nxumalo, W., AMOO, S. O. Review Natural Products from Medicinal Plants against Phytopathogenic *Fusarium* Species: Current Research Endeavours, Challenges and Prospects. *Molecules*, 26, 6539, 2021.

SGANZELA, C. M.; PREDEBOM, A. J.; VELOSO, J.; CORRALO, V. S.; ROMAN JUNIOR, W. A. REVISÃO INTEGRATIVA APLICADA A LEVANTAMENTOS ETNOBOTÂNICOS DE PLANTAS MEDICINAIS NO BRASIL. *Acta Ambiental Catarinense, Unochapecó*, 2022.

SGANZERLA, C. M.; PREDEBON, A. J.; VELOSO, J. J.; ROMAN JUNIOR, W. A. A ETNOBOTÂNICA COMO INFLUENCIADORA DA PROSPECÇÃO FARMACOLÓGICA.

SHITAN, N. Secondary metabolites in plants: transport and self-tolerance mechanisms. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Vol. 80, No. 7, 1283–1293, 2016.

SHIVANA, R.; GARAMPALLI, R. H. Efficacy of lichen extracts as biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* F. Sp. *Capsici*. *Advances in Applied Science Research*, 2014, 5(5):273-277, 2014.

SIDDIQUE, S.; PARVEEN, Z. E-BAREEN, F.; MANZOOR, A.; AKRAM, M. IN VITRO ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OILS FROM SELECTED SPECIES OF FAMILY MYRTACEAE. *PHARMACOLOGY ON LINE*, VOL 3, 2021.

SIEGA, T. C. Óleos essenciais no controle do fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (LIB). de Bary in vitro. 2018.

SILVA, A. C. O.; LIMA, R. A. Identificação das classes de metabólitos secundários no extrato etanólico dos frutos e folhas de *Eugenia uniflora* L. *Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental Santa Maria*, v. 20, p. 381–388; n. 1, jan.-abr. 2016.

SILVA, C. M. A. Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de Pernambuco - uma inovação no controle de fitopatógenos. 2013.

SILVA, C. P.; RICCI, T. G.; ARRUDA, A. L.; PAGLIOSA, F. M.; MACEDO, M. L. R. Extratos Vegetais de Espécies de Plantas do Cerrado Sul-Matogrossense com Potencial de Bioherbicida e Bioinseticida. *UNICIÊNCIAS*, v. 21, n. 1, p. 25-34, 2017.

SILVA, L. R.; OLIVEIRA, A. A.; LIMA, R. A. IDENTIFICAÇÃO DOS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS DO EXTRATO ETANÓLICO DAS FOLHAS DE *Schinus terebinthifolius* RADDI. *SOUTH AMERICAN Journal of Basic Education, Technical and Technological*, Vol. 2 N. 2, P. 84-93, 2015.

SILVA, M. A.; ALMEIDA, F. H. O.; SANTOS, D. C. T.; SILVA, W. B.; SILVA, F. A. Análise da produção científica brasileira sobre etnobotânica: protocolo de scoping review. *Research, Society and Development*, v.10, n. 14. 2021.

SILVA, R. S.; OLIVEIRA, K. M. S.; CAVALCANTE, G. M. Atividade antifúngica de *Sideroxylon obtusifolium* frente a diferentes espécies de *Candida* sp. *Estação Científica (UNIFAP)*, Macapá, v. 7, n. 1, p. 95-102, jan./abr. 2017.

SILVA, V.; MOL, H. G. J.; TIENSTRA, M.; RITSEMA, C.; GEISSEN, V. Pesticide residues in European agricultural soils – A hidden reality unfolded. *Science of the Total Environment* 653, 1532–1545, 2019.

SILVEIRA, L. M. S; OLEA, R. S. G; MESQUITA, J. S; CRUZ, A. L. N; MENDES, J. C. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. *Rev. Bras. Farm*, v. 90, n. 2, p. 124-128, 2009.

SILVEIRA, R. M.; CARVALHO, A. F. U.; BÜNGER, M. O.; COSTA, I. R. Diversidade da Composição Química dos Óleos Essenciais de Eugenia – Myrtaceae: uma revisão Diversity of the Chemical Composition of Essential Oils of Eugenia (Myrtaceae): a review. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v.7, n.3, p. 33276-33303. mar 2021.

SITOE, M. D.; MOIANE, G. S.; SITOE, C. C. Exposição dos agricultores do Posto Administrativo de Chaimite aos pesticidas agrícolas. *Revista de Ciências Agroveterinárias*, Lages, v.16, n.4, p.480-486, 2017.

SMRUTHI G.; MAHADEVAN V.; VADIVEL V.; BRINDHA P. DOCKING STUDIES ON ANTIDIABETIC MOLECULAR TARGETS OF PHYTOCHEMICAL COMPOUNDS OF *Syzygium cumini* (L.) SKEELS. *Asian J Pharm Clin Res*, Vol 9, Suppl. 3, 287-293, 2016.

SONI, U.; BRAR, S.; GAUTTAM, V. K. EFFECT OF SEASONAL VARIATION ON SECONDARY METABOLITES OF MEDICINAL PLANTS. *IJPSR*; Vol. 6(9): 3654-3662, 2015.

SPLETOZER, A. G.; SANTOS, C. R.; SANCHES, L. A.; GARLET, J. Plantas com potencial inseticida: enfoque em espécies amazônicas. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 974-997, abr./jun. 2021.

SYAMA, S.; HELEN, L. R.; LATHA, M.. Preliminary Phytochemical Screening and in vitro Antioxidant Activity of *Eugenia uniflora* L. Leaf Extracts. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences-IJPBSTM* 9 (1): 1315-1321, 2019.

TAMBE, B. D.; PEDHEKAR, P.; HARSHALI, P. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of *Syzygium cumini* (L.) (Myrtaceae) Leaves Extracts. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 9(5): 50-54, 2021.

THITE, S. V.; CHAVAN, Y. R.; APARADH, V. T.; KORE, B. A. PRELIMINARY PHYTOCHEMICAL SCREENING OF SOME MEDICINAL PLANTS. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL, CHEMICAL AND BIOLOGICAL SCIENCES*. 3(1), 87-90, 2013.

TICO, B. M.; OLIVEIRA, M. D. M.; SILVA, H. F.; SILVA, E. C.; PORCINO, M. M.; NASCIMENTO, L. C. Controle alternativo e biológico de patógenos em sementes de melancia. *Scientia Plena* 18, 070215 (2022).

URSI, S.; BARBOSA, P.P.; SANO, P.T.; BERCHEZ, F.A.S. Ensino de Botânica: conhecimento e encantamento na educação científica. *ESTUDOS AVANÇADOS* 32 (94), 2018.

VALLI, M.; RUSSO, H. M.; BOLZANI, V. S. The potential contribution of the natural products from Brazilian biodiversity to bioeconomy. *An Acad Bras Cienc* (2018).

VÁSQUEZ, S. P. F.; MENDONÇA, M. S.; NODA, S. N. Etnobotânica de plantas medicinais em comunidades ribeirinhas do Município de Manacapuru, Amazonas, Brasil. *ACTA AMAZONICA*, VOL. 44(4), p. 457 - 472. 2014.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. Caracterização das Propriedades Funcionais do Jambolão. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 26 p, 2008.

WALKER, C.; MACIEL, C.; MILANESI, P. M.; MUNIZ, F. B.; MEZZOMO, R.; POLLET, C. S. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA, MOLECULAR E PATOGENICIDADE DE *Fusarium acuminatum* E *Fusarium verticillioides* A *Cordia americana*. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 463-473, abr.-jun., 2016.

XAVIER, W. P.; RAMOS, E. G.; VIANA, G. S.; CHIQUETE, S. M.; MARINHO, A. B.; BORGES, F. R. M. PRODUÇÃO DE BIOPESTICIDAS PARA O CONTROLE ECOLÓGICO DE PRAGAS AGRÍCOLAS EM HORTAS ORGÂNICAS. *Revista Brasileira de Agricultura Irrigada* v.12, nº.4, p. 2808 – 2813, 2018.

ZAHOOR, I; MUSHTAQ, A. Water Pollution from Agricultural Activities: A Critical Global Review. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*. S, 23(1), 164-176, 2023.

ZANK, S.; HANAZAKI, N. The coexistence of traditional medicine and biomedicine: A study with local health experts in two Brazilian regions. *PLOS ONE*, April 17, 2017.

ZANUSSO, P. W.; MARIÑO, P. A.; MALDANER, G.; GONÇALVES, R. P. Avaliação fitoquímica de extratos das folhas de *Eugenia uniflora* L. *Research, Society and Development*, v. 12, n. 4, e14012441060, 2023.