



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIDADE ACADÊMICA DE SERRA TALHADA

AMANDA BARBOSA DA ROCHA

Prospecção fitoquímica e efeito de extratos da folha da algarobeira (*Prosopis juliflora* (Sw)) no controle do *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)

SERRA TALHADA/PE

2019

AMANDA BARBOSA DA ROCHA

Prospecção fitoquímica e efeito de extratos da folha da algarobeira (*Prosopis juliflora* (Sw)) no controle do *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)

Monografia submetida à coordenação do Curso de Licenciatura Plena em Química como parte dos requisitos para obtenção do grau de licenciada em Química, área de Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Renato Augusto da Silva

SERRA TALHADA/PE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca da UAST, Serra Talhada - PE, Brasil.

R672p Rocha, Amanda Barbosa da
Prospecção fitoquímica e efeito de extratos da folha da algarobeira
(Prosopis juliflora (Sw)) no controle do Colletotrichum gloeosporioides
(Penz.) Penz & Sacc do cajueiro (Anacardium / Amanda Barbosa da
Rocha. – Serra Talhada, 2019.
72 f.: il.

Orientador: Renato Augusto da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Licenciatura plena em
Química) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Unidade
Acadêmica de Serra Talhada, 2019.
Inclui referência.

1. Caju – Doenças e pragas. 2. Alcalóides. 3. Algaroba. I. Silva, Renato
Augusto da, orient. II. Título.

CDD 330

Prospecção fitoquímica e efeito de extratos da folha da algarobeira (*Prosopis juliflora* (Sw)) no controle do *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.)

Monografia submetida à coordenação do Curso de Licenciatura Plena em Química como parte dos requisitos para obtenção do grau de licenciada em Química, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Unidade Acadêmica de Serra Talhada.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Renato Augusto da Silva (ORIENTADOR)
(UFRPE/UAST)

Túlio Ricardo Couto de Lima Souza (2º titular)
(UFRPE - UAST)

Sérgio Luiz Ferreira da Silva (3º titular)
(UFRPE - UAST)

SERRA TALHADA/PE

2019

Aos meus pais, José e Marinalva, e meu avô Antônio Barbosa (in memoriam), por serem exemplos de força, honestidade e por apoiar todas as minhas decisões.

Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Ao Pai Celestial pelo dom da vida, por iluminar e proteger os meus caminhos e por cada momento vivenciado nos últimos anos.

Aos meus pais, José e Marinalva, por todo esforço, apoio, amor, incentivo e por fazer das minhas vitórias as suas vitórias. A vocês, o mérito deste momento.

Aos meus irmãos, Álvaro e Alexandre, por serem meus companheiros e pilares, me estimulando a continuar e partilhando das alegrias e tristezas.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Renato Augusto, pela confiança, apoio, incentivo e auxílio para o desenvolvimento deste trabalho.

A professora Neilza Castro, por ceder os equipamentos laboratoriais e acompanhamento durante a pesquisa.

A professora Flávia Viera, pela grande contribuição para a minha formação e por todo o apoio emocional nos momentos de tristeza e fraqueza.

Aos técnicos do laboratório de Química e Biologia: Danilo, Lorena, Nadja e Suzane, por toda ajuda durante os experimentos realizados.

A Tássia Carolyne, minha prima, irmã e amiga, por todas as histórias compartilhadas ao longo dos anos, pelo carinho, compreensão e por mostrar que a distância física torna-se apenas um detalhe diante de uma verdadeira amizade.

As amigas construídas durante esta caminhada e em especial a Paulo Sérgio, por estar ao meu lado, acreditando no meu potencial bem mais do que eu mesma posso acreditar e por mostrar que existem laços verdadeiros que não são de sangue, a você o meu amor e admiração.

A Danilo Moraes, a quem sou grata por sempre me oferecer amor e carinho nos momentos críticos e alegres e por ser a pessoa mais humana e incrível que conheço.

A Mariana Duarte, por todo companheirismo, amor, cuidado e por fazer parte dos meus dias nos últimos 2 anos. Sentirei saudades da sua alegria e afeto.

A Astrogilda Batista, pelo auxílio no desenvolvimento da pesquisa e por todo companheirismo e compreensão.

A Thais Vieira, minha irmã de Ordem, comadre e amiga, por de fato ter me acolhido como membro da família, e acima de tudo, ter me agraciado com o melhor presente, a minha Laura.

A Maria Celeste, meu cabelinho de anjo, por ser minha parceira nas mais insanas ideias e situações, por todas as histórias construídas e partilhadas.

A John Victor, a primeira pessoa que a UAST me deu, a quem tenho um grande amor, consideração e afeto.

A todos vocês, a minha gratidão.

RESUMO

A cultura do cajueiro (*Anacardium Occidentale* L.) é um importante agronegócio responsável pela movimentação econômica brasileira. No entanto, o declínio da safra de amêndoa da castanha do caju ocorrente nos últimos anos fez o Brasil ocupar a décima quarta posição no ranking mundial de produção no ano de 2016. O enfraquecimento da cajucultura é atribuído, em partes, à propagação de doenças e pragas, por falta de manejo, sendo a antracnose a doença mais preocupante, pois ataca o hospedeiro em qualquer fase do seu desenvolvimento e se potencializa pela ação de fatores ambientais. A contínua utilização de substâncias químicas sintéticas para controle e manejo resulta na seletividade e resistência de patógenos e, portanto, métodos alternativos de fonte natural são uma eficaz solução para o tratamento destas patologias vegetais, minimizando o impacto ambiental e diminuindo o risco a saúde humana. Desta maneira, o presente trabalho tem por objetivo avaliar o potencial antifúngico dos extratos da folha da *Prosopis Juliflora* (Sw) no controle do *Colletotrichum gloeosporioides*, agente fitopatogênico da antracnose. A coleta das folhas da *P. juliflora* foi realizada na cidade de Juru-PB, e após secagem e trituração do material vegetal, a prospecção fitoquímica dos extratos aquosos e etanólicos foi realizada sendo comprovada a presença de compostos fenólicos, tânicos, flavonoídicos e alcaloidais. Em seguida foi realizada a obtenção da fração de alcaloides totais por meio de extração ácido-base da planta em estudo. Depois da coleta de folhas, frutos e galhos com características sintomáticas típicas da antracnose, em Fátima, Distrito de Flores-PE, o patógeno foi identificado por método macroscópico e microscópico após ser cultivado em placas petri vertidas com meio BDA (Batata-Dextrose-Agar) por sete dias de cultivo a temperatura ambiente e fotoperíodo de 12 horas. Extratos aquosos, etanólicos e alcaloidais foram preparados e submetidos a avaliação antifúngica, sendo inicialmente realizado pré-testes de difusão em poços e discos com melhores resultados para o extrato etanólico e posteriormente com reprodução do método de difusão em poços com extrato alcaloidal. Na metodologia de crescimento micelial por diluição em placa a dose de $13,6 \text{ mg mL}^{-1}$ do extrato da FAT e 100% do extrato etanólico resultaram numa PIC de 100% e com a dose de $6,8 \text{ mg mL}^{-1}$ do extrato da FAT e do extrato etanólico diluído a 50% o resultado foi uma PIC de 75 % e 81%, respectivamente. Desta forma, todos os extratos da folha da *P. juliflora* testados no presente trabalho, com comprovação da presença de alcaloides, possuem potencial antifúngico sobre o *C. gloeosporioides*.

Palavras-chave: *Colletotrichum gloeosporioides*; *Prosopis Juliflora*; alcaloides piperidínicos; atividade antifúngica.

ABSTRACT

The cashew culture (*Anacardium Occidentale* L.) is an important agribusiness responsible for the Brazilian economic movement. However, the decline of the cashew nut almond crop in recent years has made Brazil the 14th place in the world production ranking in 2016. The weakening of cashew cultivation is attributed to the spread of diseases and pests, lack of management, anthracnose is the most worrying disease because it attacks the host at any stage of its development and is enhanced by the action of environmental factors. Continuous use of synthetic chemicals for the control and management results in selectivity and resistance to pathogens and thus alternative methods of natural source are an effective solution for the treatment of such plant diseases, while minimizing the environmental impact and reducing the risk to human health. In this way, the present work aims to evaluate the antifungal potential of leaf extracts of *Prosopis juliflora* (Sw) in the control of *Colletotrichum gloeosporioides*, phytopathogenic agent of anthracnose. *P. juliflora* leaves were collected in the city of Juru-PB, and after drying and crushing of the plant material, the phytochemical prospection of the aqueous and ethanolic extracts was carried out, proving the presence of phenolic, tannic, flavonoid and alkaloid compounds. Then it was performed to obtain the fraction of total alkaloids by acid-base extraction from the plant under study. After harvesting leaves, fruits and branches with symptomatic features typical of anthracnose, in Fátima, District of Flores-PE, the pathogen was identified by macroscopic and microscopic method after being cultured in petri dishes discharged with BDA (Potato-Dextrose-Agar) for seven days of cultivation at room temperature and photoperiod of 12 hours. Aqueous, ethanolic and alkaloidal extracts were prepared and submitted to antifungal evaluation. Pre-tests were carried out in wells and disks with better results for the ethanolic extract and later with reproduction of the diffusion method in wells with alkaloidal extract. In the methodology of mycelial growth by plate dilution the dose of 13.6 mg.mL⁻¹ of the FAT extract and 100% of the ethanolic extract resulted in a PIC of 100% and with the dose of 6.8 mg.mL⁻¹ of the extract of FAT and the ethanolic extract diluted to 50% resulted in a PIC of 75% and 81%, respectively. Thus, all leaf extracts of *P. juliflora* tested in this work, proof of presence of alkaloids having potential antifungal about *C. gloeosporioides*.

Keywords: *Colletotrichum gloeosporioides*; *Prosopis juliflora*; piperidinic alkaloids; antifungal activity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Mapa botânico da <i>A. occidentale</i> L.	18
Figura 02: Sistema radicular do cajueiro	20
Figura 03: Partes do caju.	22
Figura 04: Interior da castanha do caju	23
Figura 05: Conídios do <i>C. gloeosporioides</i>	27
Figura 06: Folhas do cajueiro com sintomas da antracnose.	29
Figura 07: <i>P. Juliflora</i>	31
Figura 08: Alcaloides mais abundantes das folhas da <i>P. juliflora</i>	33
Figura 09: Rotas biossintéticas dos metabólitos secundários	34
Figura 10: Alguns núcleos presentes nos alcaloides.....	35
Figura 11: Exemplo da biossíntese de um metabólito secundário (antranoide) via regra do acetato	36
Figura 12: Formação de compostos fenilpropanóides.....	38
Figura 13: Teste com cloreto férrico 1% para compostos fenólicos.	49
Figura 14: Teste com gelatina 2,5% para taninos.	50
Figura 15: Teste para flavonoides	50
Figura 16: Reação de Shinoda.....	51
Figura 17: Teste de pH para flavonoides por classes	51
Figura 18: Testes para alcaloides.	52
Figura 19: Teste para saponinas.....	53
Figura 20: Teste para triterpenoides.	53
Figura 21: Teste para esteroides.....	54
Figura 22: Alcaloides extraídos.	56
Figura 23: Características macroscópicas e microscópicas.....	57
Figura 24: Teste preliminar de difusão de discos e poços	57
Figura 25: Teste antifúngico com extrato alcaloidal.	59
Figura 26: Inibição do crescimento micelial do <i>C. gloeosporioides</i> com uso dos extratos.	62

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Alcaloides das folhas da <i>P. juliflora</i>	33
Tabela 02: Condensação de unidades de isopreno na formação de terpenóides.....	37
Tabela 03: Resposta padrão aos testes de identificação da classe de antocianinas, antocianidinas e flavonoides conforme mudança de coloração.	41
Tabela 04: Resultado dos testes fitoquímicos da <i>Prosopis juliflora</i>	48
Tabela 05: Rendimento do Extrato Bruto.	55
Tabela 06: Rendimento de alcaloides por extração.	56
Tabela 07: Halo de inibição do teste de difusão de disco e poços.	58
Tabela 08: Teste antifúngico de difusão em poços com a FAT em solução aquosa.	60
Tabela 09: Diâmetro médio das colônias no ensaio antifúngico de crescimento micelial.	61
Tabela 10: Ensaio antifúngico comparado pela PIC.....	61

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01: Produção de castanha de caju	25
--	----

LISTA DE DIAGRAMAS

Diagrama 01: Sequência metodológica até a obtenção da FAT	39
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

BDA	Batata-Dextrose-Ágar
DMSO	Dimetilsulfóxido
EAL	Extrato alcaloidal
EAQ	Extrato aquoso
EEB	Extrato etanolico bruto
FAT	Fração de alcaloides totais
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
PIC	Percentual de inibição do crescimento micelial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	18
2.1 CAJUEIRO (<i>A. occidentale</i> L.)	18
2.1.1 A botânica do cajueiro	19
2.1.2 Importância econômica da <i>A. occidentale</i> L.....	21
2.2 DOENÇAS DO CAJUEIRO	26
2.2.1 O gênero <i>Colletotrichum</i> Corda e a espécie <i>Colletotrichum gloeosporiodes</i> (Penz.) Penz & Sacc.	26
2.2.2 Antracnose	28
2.3 ALGAROBIEIRA (<i>Prosopis juliflora</i> (Sw)).....	30
2.3.1 Descrição da <i>P. Juliflora</i>	30
2.3.2 Histórico da <i>P. Juliflora</i> no Brasil.....	31
2.4 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	34
2.4.1 Alcaloides	35
2.4.2 Polícetideos.....	36
2.4.3 Terpenos e terpenóides	37
2.4.4 Felnilpropanoides	37
3 METODOLOGIA.....	39
3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	39
3.2 SECAGEM	39
3.3 MOAGEM.....	40
3.4 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA QUALITATIVA	40
a) Compostos fenólicos 38	40
b) Taninos	40
c) Flavonoides	40
d) Flavonoides por classe	41
e) Alcaloides.....	41
f) Saponinas	41
g) Esteroides	42
h) Triterpenoides	42
3.5 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO	42
3.6 OBTENÇÃO DA FRAÇÃO DE ALCALOIDES TOTAIS	42

3.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	43
3.7.1 Isolamento de Fitopatogênicos.....	43
3.7.2 Identificação do agente patógeno	43
3.7.3 Preparação dos extratos	44
3.7.4 Ensaios preliminares	44
3.7.5 Análise dos dados dos testes preliminares	45
3.7.6 Ensaios antifúngicos	45
3.7.7 Determinação da percentagem de inibição do crescimento micelial	45
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	47
4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL	47
4.2 SECAGEM	47
4.3 MOAGEM.....	47
4.4 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA QUALITATIVA	47
4.5 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO	54
4.6 OBTENÇÃO DA FRAÇÃO DE ALCALOIDES TOTAIS	55
4.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA.....	56
4.7.2 Identificação dos agentes fitopatogênicos.....	56
4.7.5 Análise dos dados dos testes preliminares	57
4.7.7 Determinação da percentagem de inibição do crescimento micelial	60
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1 INTRODUÇÃO

O Brasil é um país com uma extraordinária biodiversidade e tem se tornado referência em pesquisas da área dos Produtos Naturais, pois um grande crescimento de trabalhos de cunho científico nos últimos anos levou a descoberta de substâncias com aplicação medicinal e tecnológica (BORGES E COLABORADORES, 2017).

Segundo Viegas Junior, Bolzani e Barreiro (2006) ao decorrer da história da humanidade, tendo destaque nas civilizações Grego-romana, Egípcia e Chinesa, os produtos naturais foram utilizados com ênfase nos remédios da medicina popular; venenos utilizados em execuções, como no caso de Sócrates envenenado por extrato de cicuta; inseticidas naturais; extratos utilizados pelos índios em suas flechas para a defesa e auxílio na caça; em rituais indígenas; como compostos alucinógenos utilizados em magias e rituais religiosos, dentre outros.

Santos (p. 404, 2007) relata a desvalorização do uso dos produtos naturais por inúmeras décadas sendo os metabólitos secundários considerados como “produtos de excreção do vegetal, com estruturas químicas e, algumas vezes, propriedades biológicas interessantes”. As opiniões sobre os benefícios dos metabólitos secundários foram se fortalecendo com o passar do tempo e o potencial terapêutico e tecnológico de boa parte destas substâncias orgânicas, sendo o reino vegetal o maior colaborador, tem sido comprovado por meio da pesquisa científica (PINTO E COLABORADORES, 2002; SANTOS, 2007).

A crença e a medicina popular dos diversos povos vêm se fortalecendo por meio do uso de extratos de ervas na cura e alívio de doenças. A relação entre os produtos naturais e o desenvolvimento de medicamentos é evidenciada nas palavras de Viegas Junior, Bolzani e Barreiro (2006), ao se afirmar que a química passou a estudar as plantas utilizadas como remédio pela sua popularidade na sociedade, de maneira que era realizado o isolamento e determinação dos princípios ativos destas, as quais passaram a ser transformados, de fato, em medicamentos. Tem-se como exemplo os salicilatos extraídos da *Salix alba*, originária do ácido acetil-salicílico (AAS) e precursor dos fármacos sintéticos.

Com o passar do tempo, uma crescente aplicação dos metabólitos secundários extraídos dos organismos vegetais passou a ser destinada aos meios rurais, almejando o manejo e controle de pragas e insetos. Para isso extrato de

plantas com propriedades apropriadas para tais são utilizadas. Segundo Cavalcante, Moreira e Vasconcelos (2006) o uso alternativo destes extratos de fonte natural e menos agressivos ao meio ambiente e a saúde humana, tem como ponto positivo o fato de ter um efeito mais durador quando aplicados adequadamente.

Dentre as espécies nativas brasileiras responsáveis pela movimentação econômica de vários estados da região nordeste do Brasil destaca-se o cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), cuja cultura também foi distribuída para regiões norte e centro-oeste do país e difundida para os continentes da África, Ásia e Oceania por volta do século 16 (ALMEIDA; LOPES; ARAÚJO, 2002).

Segundo Serrano e Pessoa (2016), a produção desta espécie também é capaz de acontecer durante períodos de estiagem, uma vez que a mesma é capaz de se adequar as condições de solo, temperatura e estresse hídrico dos estados nordestinos. Menezes (2005) afirma que ambas as partes do caju possuem uma aplicação comercial, sendo o pedúnculo hipertrofiado (o pseudofruto) destinado à produção de doces, sucos, geleias, bebidas alcoólicas, dentre outros. A castanha, o seu fruto, dispõe de dois tipos de utilização: o óleo da castanha do caju na produção de resinas, tintas e polímeros; e amêndoa da castanha do caju, destinada ao mercado alimentício e aplicada para diversos fins. Paiva, Crisóstomo e Barros (2003) apontam que a cajucultura é responsável por movimentar aproximadamente 160 milhões de dólares por ano da amêndoa da castanha do caju e gerar cerca de 42.000 vagas empregos desde o momento do seu cultivo/produção à comercialização.

Menezes (2005) afirma que o cajueiro pode ser atacado por diversas patologias vegetais, sendo a antracnose classificada como a mais importante, a mesma é causada pelo fungo *Colletotrichum gloeosporioides*, podendo manifestar-se nas folhas e frutos em qualquer momento do seu desenvolvimento, destacada inicialmente através do aparecimento de queimaduras irregulares e desenvolvendo posterior de manchas necrosadas.

O uso das substâncias extraídas das plantas, levando em consideração a grande diversidade de substâncias bioativas, é uma alternativa natural para o tratamento destas patologias vegetais. Corrêa e Salgado (2011) defendem que a capacidade de cura é justificada pelo caráter tóxico dos metabolitos existentes nestes organismos, agindo no controle de pragas e outras fitopatologias ocasionando um retardamento no seu crescimento e dificultando a sua reprodução.

Estudos realizados por Cunha e Silva (2012), Ribaski e colaboradores (2009) e Tabosa e colaboradores (2000) apontam propriedades relacionando a *Prosopis Juliflora* a este campo, observando a sua forma de atuação na natureza, em relação a organismos vegetais e animais e a sua composição química e biológica. Sendo uma planta originária do Peru, as primeiras mudas de algarobeira chegaram ao Brasil em 1942, sendo posteriormente classificada como um problema de âmbito ambiental ao se observar sua relação com o meio a qual se encontra inserida. Assim, a partir de estudos concluiu-se que estes comportamentos ocorriam graças à composição dos seus metabolitos secundários, visto que a mesma é composta por alcaloides, sendo eles substâncias tóxicas e de grande importância na área dos produtos naturais. Na literatura encontram-se registros da utilização de extratos e metabolitos secundários da algaroba como anti-helmíntico (BATATINHA E COLABORADORES, 2011); antitumoral (COSTA; CAVALCANTE, 2018); anticolinérgica (CARNEIRO E COLABORADORES, 2017); inseticida (CAVALCANTE; MOREIRA; VASCONCELOS, 2006) e fungicida (CUNHA, 2012), dentre outros.

Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo avaliar o potencial antifúngico dos extratos das folhas da *Prosopis Juliflora* (Sw) no controle do *Colletotrichum gloeosporioides*, agente patógeno da antracnose.

Tendo como objetivos específicos identificar os metabolitos secundários dos extratos aquosos e etanólicos das folhas da *P. juliflora*, bem como obtenção da fração dos alcaloides totais (FAT) e avaliação do potencial antifúngico dos extratos aquosos, etanólicos e alcaloidal.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CAJUEIRO (*A. occidentale* L.)

O cajueiro (*A. occidentale* L.) é uma planta nativa brasileira cuja cultura, conforme relatos, foi expandida inicialmente por colonizadores portugueses para regiões da África e Índia de maneira que facilmente esta espécie passou a ser admirada e distribuída para áreas costeiras intertropicais, sendo encontrado atualmente em regiões que vão desde o sul da Florida à África do Sul (ALMEIDA; LOPES; ARAUJO, 2002; BARROS E COLABORADORES, 2002). De acordo com o Herbário Virtual da Reflora, no Brasil a sua distribuição geográfica acontece em todas as regiões do país, conforme pode ser visualizado na Figura 01.

Figura 01: Mapa botânico da *A. occidentale* L.



Fonte: <http://reflora.ibri.gov.br> Acessado em 27/05/2019.

Embora o cajueiro seja uma planta adaptável ao meio a qual se encontra, existem condições favoráveis para a cajucultura, como os fatores climáticos e do solo. Para uma boa reprodução do cajueiro, a região a qual se deseja cultivar deve ter uma média pluviométrica entre 800 e 1500 mm/ano ocorrente entre 6 a 7 meses, havendo períodos de estiagem de 5 a 6 meses, para ocorrência da floração e

frutificação do cajueiro. Em regiões de chuvas contínuas ocorrem alterações no crescimento, floração e frutificação, havendo uma maior sensibilidade a fungos, diminuindo assim a produção. A temperatura ideal para a cultura é aproximadamente 27°C, suportando uma temperatura máxima de 40°C. Alterações de temperatura como o aumento excedente a 45°C por longo tempo é responsável pelo ressecamento e declínio das flores e frutos, as temperaturas abaixo de 18°C afetam a floração e frutificação, ocasionando a queda destes e afetando a produção. A umidade do ar deve estar entre 70 e 80%, como é o caso das regiões litorâneas, nas regiões de baixa umidade como no caso das semiáridas, possuindo cerca de 50% da umidade relativa, o bom desenvolvimento e produção dos cajueiros acontece caso o solo esteja em condições favoráveis e a cultura seja irrigada. Os solos ideais para a cultura são profundos, arenosos, de fertilidade natural, baixa concentração de alumínio trocável, pH entre 4,5 e 6,5 e de boa drenagem (AGUIAR; COSTA, 2002; ALMEIDA; LOPES; ARAUJO, 2002).

2.1.1 A botânica do cajueiro

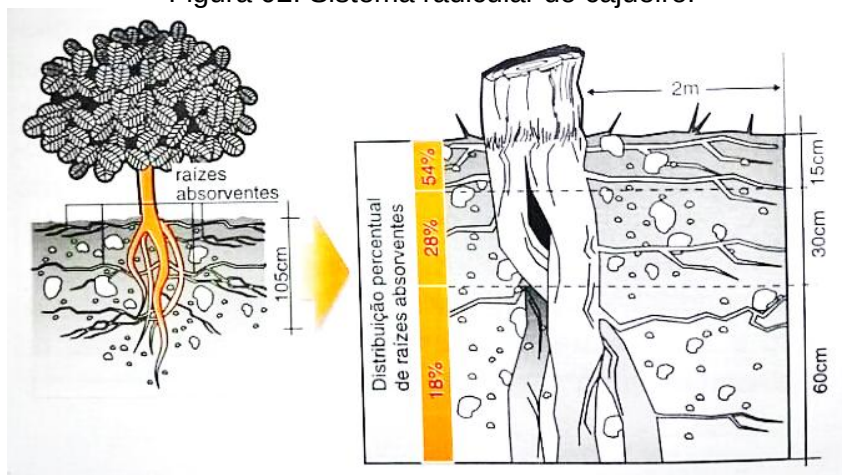
O cajueiro nativo faz parte da família Anacardiaceae, a qual possui entre 60 a 74 gêneros e 400 a 600 espécies, estando entre as mais populares, além da propriamente dita, a manga (*Mangifera indica*), pistache (*Pistacia vera*), umbu (*Spondias tuberosa*), cajá (*Spondias mombim*), siriguela (*Spondias purpurea*) e cajá-manga (*Spondias cytherea*). Na cajucultura outras espécies de cajueiro, classificadas como sem valor econômico, são encontradas, sendo elas a *A. microcarpum*, *A. humili*, *A. othonianum*.. A *A. occidentale* L. é mais conhecida e utilizada para cultivo, sendo identificadas na natureza duas variedades de características bem definidas: o cajueiro comum e o anão precoce (ALMEIDA; LOPES; ARAUJO, 2002; BARROS E COLABORADORES, 2002).

A diferença entre o cajueiro comum e o anão precoce se dar ao se observar, inicialmente o porte físico de ambos, onde o cajueiro comum é considerado uma planta de alto porte e o anão precoce de menor porte, esse atingindo normalmente uma altura de 10 a 12m e possuindo uma envergadura de 14 a 16m e o segundo, atingindo cerca de 6m e envergadura entre 6 a 8m. Outra diferença que se pode observar normalmente é o tempo de floração e produção de ambos os tipos, de modo que o cajueiro anão precoce inicia a sua floração entre os seus 12 meses iniciais, frutificando-se em um período de 6 a 7 meses seguidos. Os pedúnculos

originários do cajueiro comum possuem um pequeno tamanho e formato achatado, podendo ser encontrado na em coloração entre laranja e amarelo e coloração interna amarelo claro, enquanto o pedúnculo originário do cajueiro anão precoce são grandes e alongados, de coloração laranja ou amarela e coloração interna entre branco e creme (ALMEIDA; LOPES; ARAUJO, 2002; BARROS E COLABORADORES, 2002; SERRANO; OLIVEIRA, 2013; HORTIESCOLHA, 2017).

Conforme observado na Figura 02, o cajueiro possui um sistema radicular duplo, sendo dividido em raízes centrais localizadas verticalmente, a qual pode chegar a apresentar 10 metros de profundidade, e raízes distribuídas horizontalmente em suas laterais, onde ao longo da sua extensão encontra-se radicelas, sendo esse tipo responsável pela absorção de nutrientes e água para o mantimento da planta, de maneira que cerca de 82% das raízes laterais encontram-se distribuídas nos primeiros 30 cm da superfície do solo (ALMEIDA; LOPES; ARAUJO, 2002; BARROS E COLABORADORES, 2002; SERRANO; OLIVEIRA, 2013; VIDAL NETO E COLABORADORES, 2013).

Figura 02: Sistema radicular do cajueiro.



Fonte: Almeida, Lopes e Araujo (2002).

A demanda por melhoramento nas condições de cultivo e manejo dos cajueiros foi crescendo com o aumento do processo extrativo do caju, sendo assim, grupos de pesquisa agrícolas se dedicaram ao melhoramento das condições do solo, do tratamento e prevenção de pragas, espaçamento da plantação, quantidade de água adequada para o cultivo, processo pós-colheita, e modificação genética dos cajueiros naturais, almejando o aumento e melhoramento da produção e colheita do caju, como também o aprimoramento e ascensão dos produtos advindos deste.

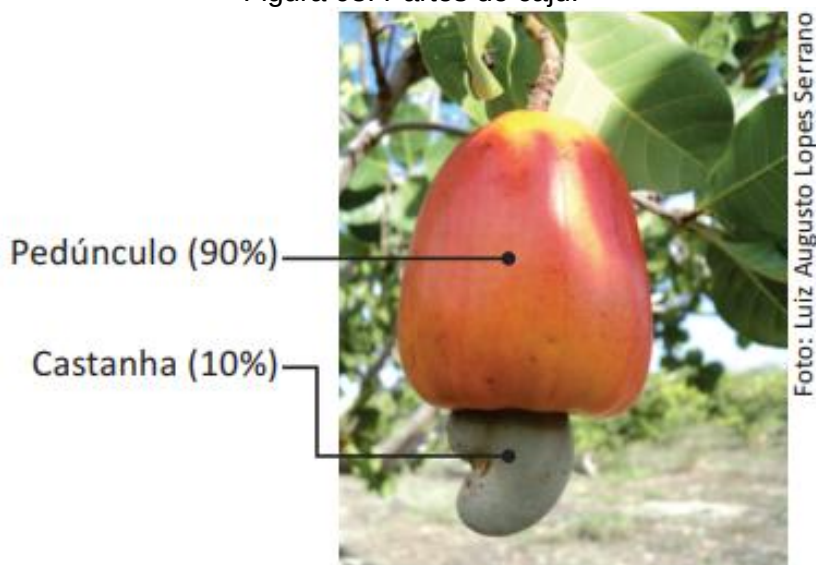
Outro motivo para o melhoramento genético foi à busca pelo aproveitamento do pedúnculo (pseudofruto), sendo produzidas plantas capazes de originar frutos com maior peso, rendimento e pedúnculos mais atrativos pelo público consumista. Os clones são desenvolvidos visando as características da região a qual se deseja produzir, tendo em vista as condições climáticas, pluviométricas, condições de solo, dentre outras. Visto isso, a produtividade dos clones existentes pode não ser a mesma ao serem utilizados em regiões diferentes, resultando em uma queda significativa na produtividade, uma vez que nem todos possuem a capacidade de fácil adaptação ao ambiente (GOMES, 2010; VIDAL NETO E COLABORADORES, 2013).

2.1.2 Importância econômica da *A. occidentale* L.

A amêndoa da castanha do caju é o principal produto de comercialização, caracterizando uma atividade específica e de grande importância econômica brasileira, onde segundo Araújo (2015) “[...] a amêndoa de castanha-de-caju, participa de um mercado mundial bilionário, com movimentação superior a US\$ 2,4 bilhões por ano, além de empregar diretamente 1,2 milhão de pessoas”, desde a mão de obra da produção até a exportação.

Apesar da relevância da comercialização da amêndoa da castanha do caju, a indústria possui interesse comercial nos seus subprodutos, desta maneira, o caju é inteiramente comercializado. Conforme pode ser observado na Figura 03, o caju é formado por um fruto e pseudofruto, estando este localizado entre o fruto e e unidos pelos galhos da árvore. O pseudofruto, ou pedúnculo, sofre um aumento significativo, sobressaindo o tamanho do fruto em si. A castanha do caju é classificada cientificamente como seu fruto, sendo formada por um líquido presente na casca da castanha de propriedade corrosiva denominado de líquido da castanha do caju (LCC) e a amêndoa da castanha do caju (ACC), composta por um alto teor de vitaminas, fibras, proteínas e minerais (ARAÚJO, 2015; GOMES 2010).

Figura 03: Partes do caju.



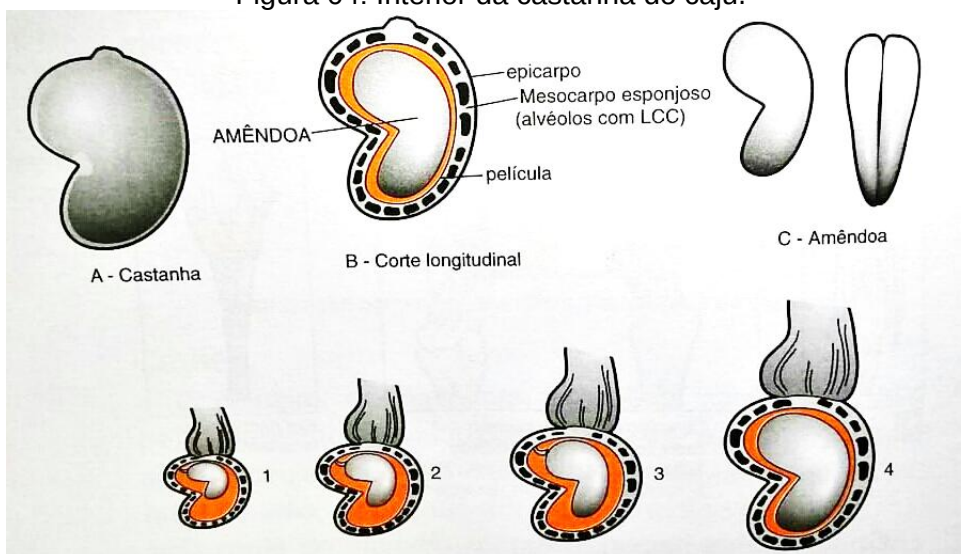
Fonte: Serrano e Oliveira (2013).

Cerca de 90% do peso total do caju é referente ao pedúnculo, o qual pode apresentar formato cilíndrico, piriforme ou alongado, variando sua coloração entre o amarelo-pálido ao vermelho intenso. Por muito tempo, este caracterizou a maior parte do desperdício visto que a importância comercial se encontra na ACC. O pedúnculo possui um alto valor nutritivo, sendo composto por cálcio, fósforo, ferro, polifenóis, conferindo a este uma alta atividade antioxidante, e um teor de vitamina C entre 3 e 5 vezes superior ao contido na laranja, segundo estudos, 100mL de um copo de suco de caju possui cerca de 261mg de vitamina C, 14,7mg de cálcio, 32,5mg de fósforo e 0,34mg de ferro. Os fatores de perda deste estão relacionados à sua pouca resistência à pós-colheita, como também ao processo de industrialização e processamento do suco, o qual ao passar do tempo conferem alterações no seu sabor e odor. Na atualidade, o pedúnculo do caju é destinado a uma infinidade de produções sendo utilizado como fruto de mesa, doces processados, sorvetes, barras de cereais, bebidas, dentre outros (ALMEIDA E COLABORADORES, 2002; ARAÚJO, 2015; GOMES, 2010; LOPES E COLABORADORES, 2012).

A castanha do caju apresenta coloração entre verde-acinzentado, marrom-acinzentado e cinza, possuindo o formato semelhante ao de um rim humano. A sua amêndoa é composta em sua grande parte por carboidratos, lipídios e proteínas. A castanha é constituída por quatro partes: a casca, também conhecida como epicarpo, que compõe aproximadamente 70% do peso do fruto; o mesocarpo, a qual

corresponde a 3% do peso do fruto e encontra-se na região intermediária após a casca, formada por bolsas preenchidas do LCC; endocarpo, localizado internamente na casca, responsável pela proteção da amêndoa; e a amêndoa, parte de importância comercial por ser comestível e nutritiva (ALMEIDA; LOPES; ARAUJO, 2002; GOMES, 2010; SERRANO; OLIVEIRA, 2013), podendo ser observado na Figura 04.

Figura 04: Interior da castanha do caju.



Fonte: Almeida, Lopes e Araujo (2002).

Das demais partes da castanha do caju, Gomes (2010) afirma que estas são utilizadas para fins alternativos, como por exemplo, o epicarpo é reutilizado por empresas para a produção de energia térmica para as caldeiras, no qual se utiliza uma proporção de 30% de cascas, fazendo-se uso de filtros para a saída de vapor visando a prevenção da poluição ambiental. O LCC foi o primeiro produto exportado, sendo utilizado na Segunda Guerra Mundial pela indústria bélica, nos dias atuais é de grande importância na indústria química por ser utilizado para diversos fins, como por exemplo, na fabricação de tintas, de polímeros, fungicidas, inseticidas e etc. Sua extração acontece a partir de processos térmicos, químicos ou mecânicos. O endocarpo possui aplicação na produção de curtumes, visto que a mesma possui entre seus componentes os fenóis, bem como utilizada para produção de rações para animais.

Barros e colaboradores (2008, p.345) ressaltam como o Brasil adentrou no mercado de exportação da amêndoa da castanha do caju, sendo relatado o lucro de US\$ 348 mil nos seus dez primeiros anos de exportação.

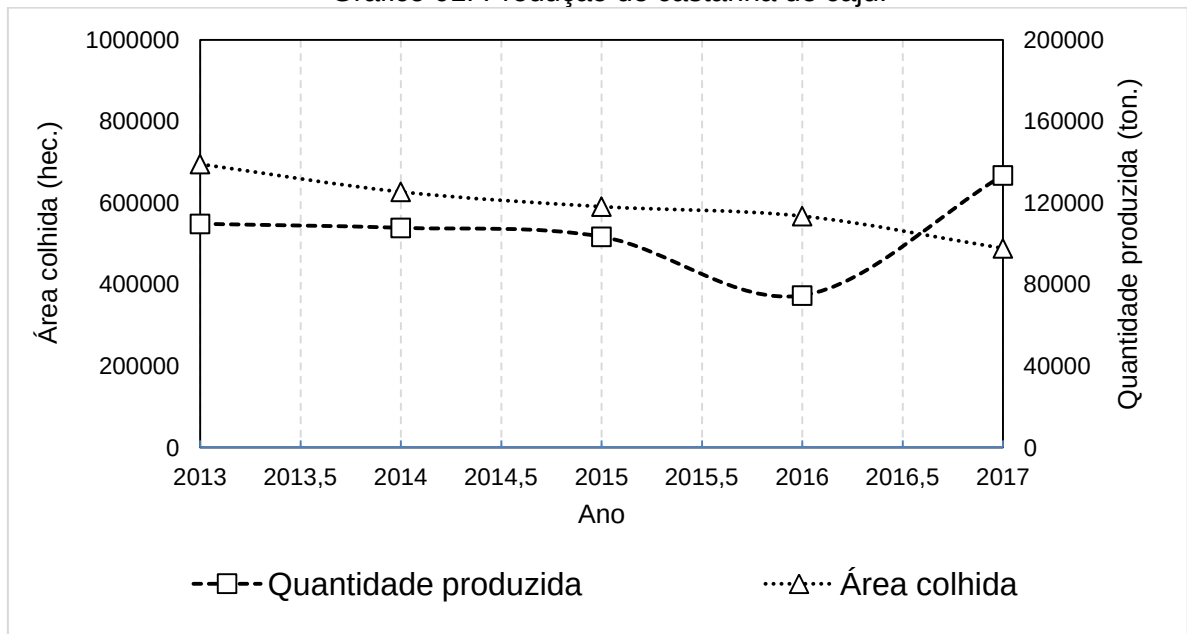
Apesar da origem e da tradição de uso da amêndoa da castanha-de-caju (sic) no Brasil, foi a Índia que iniciou a comercialização da ACC para os Estados Unidos da América e Europa no início do século 20. O Brasil só entrou no mercado na década de 1950, aproveitando os canais de comercialização do LCC, cujo mercado se encontrava em declínio, e motivado pelo atrativo preço da ACC na ocasião.

Ao se observar a grande capacidade do cajueiro de adequação a solos pouco férteis e estresses hídricos e térmicos, bem como a relevância da exportação da ACC, em 1970 o governo passou a investir em programas de incentivo à cajucultura almejando a ampliação do cultivo de cajueiros e processos industriais para o pedúnculo nos estados nordestinos, assim fazendo deste um potencial econômico para a região, no que diz respeito à produção, comercialização e geração de empregos (SERRANO; PESSOA, 2016; VIDAL, 2017).

Durante muito tempo o Brasil ocupou importantes colocações no ranking de maior produção de ACC, estando em quinto lugar no ano de 2011 e passando a ocupar a décima quarta posição em 2016 devido ao declínio da cajucultura no nordeste brasileiro. A produtividade do Brasil caiu a ponto de perder o seu potencial exportador e assim necessitar realizar importações da ACC para suprir a demanda do país (BRAINER; VIDAL, 2018).

Conforme dados do IBGE (2018), no ano de 2017 o Brasil produziu 134.580 t de ACC, sendo o nordeste a região brasileira de maior produção, perfazendo um total de 133.028 t neste mesmo ano. Entre os estados nordestinos de maior produção encontra-se o Ceará responsável por 83.996 t da produção nordestina. O Gráfico 01 contém informações referentes a área de caju colhida e a quantidade de castanha de caju produzida no Brasil, sendo observado que a área colhida apresentou uma queda entre os anos de 2013 e 2017 e declínio da produção de castanha de caju nos período de 2013 a 2016, havendo uma alta no ano de 2017.

Gráfico 01: Produção de castanha de caju.



Fonte: IBGE – Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (2018).

Levando em consideração que a região nordeste é a região de maior produção, a queda da produtividade pode ser explicada por Vidal (2016, p 17):

Um dos motivos é que a maior parte dos pomares está em fase de declínio natural da produção [...] A própria arquitetura da planta inviabilizada (sic) alguns tratos culturais a exemplo do controle químico de pragas e doenças. Além disso, a baixa rentabilidade da cultura não viabiliza o aumento dos custos com tratos culturais [...] A situação da atividade de baixo desempenho em termos de lucratividade e rendimento da cultura por hectare foi agravado pelo longo período de seca e ocorrência de pragas e doenças, que causaram não somente a quebra da safra, mas também a morte de grande número de plantas, principalmente as mais antigas.

Segundo Brainer e Vidal (2018) o crescimento observado no ano de 2017 é recorrente as melhorias climáticas e a lenta regularização das chuvas ocorridas entre os anos de 2017 e 2018, responsáveis por possibilitar a recuperação e crescimento da cajucultura em relação aos anos de declínio, embora ainda exista uma grande distância entre a produção atual e a produção de 2011.

2.2 DOENÇAS DO CAJUEIRO

O cajueiro é suscetível a mais de 20 doenças, das quais grande parte são causadas por fungos, afetando desde a raiz às folhas e frutos da planta, havendo maior conhecimento das doenças responsáveis por afetar a parte aérea, uma vez que se apresentam mais aparente e são mais agressivas à produção. Os danos causados são observados desde o campo à pós colheita, sendo identificado como fitopatologias de campo a antracnose, resinose e o mofo preto; encontradas em viveiros a requeima e o tombamento de plântulas; e em pós colheita a deterioração fúngica da amêndoa (CARDOSO E COLABORADORES, 2013; CARDOSO; FREIRE, 2002).

2.2.1 O gênero *Colletotrichum* Corda e a espécie *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz & Sacc.

Os patógenos pertencentes ao gênero *Colletotrichum* são responsáveis pela redução da colheita de importantes culturas agrícolas (Menezes, 2006). O gênero *Colletotrichum* faz parte da família *Glomerellaceae*, pertencendo ao grupo dos anamórficos e classe Sordariomycetes, caracterizando-se estruturalmente por conídios unicelulares e hialinos, podendo variar o seu formato entre cilíndrico, retos e curvos (KIRK E COLABORADORES, 2008; PITT; HOCKING, 2009). Segundo Pitt e Hocking (2009, p 81, TRADUÇÃO NOSSA) “os conídios são carregados dentro de um acérvulo, uma estrutura com uma tampa mais ou menos fechada que eventualmente se rompe”.

A determinação do gênero *Colletotrichum* aconteceu em 1831 por Corda, o qual o descreveu como formado por acérvulos em forma de setas responsáveis pela produção de conídios hialinos de coloração creme ou laranja. Visto a existência de semelhanças entre as estruturas dos acérvulos o gênero *Colletotrichum* foi considerado como fase final do desenvolvimento da *Vermicularia* e suas espécies como pertencentes ao gênero *Gloeosporium*, apesar de não haver relação entre os acérvulos, existiam equivalências em suas características. Porém ao se levar em consideração que o formato dos acérvulos pode variar de acordo com as condições ofertadas pelo meio de cultivo, a classificação quanto a esta característica passou a ser desconsiderada. Em 1957 Von Arx afirmou que os componentes do gêneros *Colletotrichum*, *Vermicularia* e *Gloeosporium*, até então existentes, na verdade faziam parte do mesmo gênero, sendo assim mantido a denominação genética de

Colletotrichum e reorganizado os conceitos a respeito deste, onde ao se observar as características morfológicas das 750 espécies referentes aos três grupo, concluiu-se que levando em consideração a mesma ordem genérica, estas resumiam-se em 11 espécies. Ao decorrer do tempo, o número de espécies referentes a este foi alterada diversas vezes, definindo-se um total de 119 espécies agrupadas em nove complexos, sendo eles: *gloeosporioides*, *boninense*, *acutatum*, *graminicola*, *spaethianum*, *destructivum*, *demantium*, *truncatum* e *orbiculare* (MENEZES, 2006, MENEZES; HANLIN, 1996; CANNON E COLABORADORES, 2012).

Menezes (2006) e Pitt e Hocking (2009) apontam que existem organismos saprofíticos como também patogênicos nas espécies pertencentes ao *Colletotrichum*. Um exemplo de espécie patogênica de grande importância e comumente responsável pelo dano em frutas tropicais, por serem causadores da antracnose, é o *C. gloeosporioides*, sendo considerada a sua definição como mal estruturada, visto a quantidade de espécies que se assemelham as suas características. Tendo como fase teleomórfica a *Glomerella cingulata*, o *C. gloeosporioides* produz conídios entre 12 e 18 mm de comprimento e formato cilíndricos de pontas arredondadas, existindo registros de ataque desta espécie a cerca de 470 hospedeiros distintos (Figura 05).

Figura 05: Conídios do *C. gloeosporioides*.



Fonte: Calderon, 2018.

2.2.2 Antracnose

Dentre as doenças causadas pelos patogênicos, a antracnose é considerada uma das doenças mais importantes de âmbito econômico, podendo acontecer o ataque do patógeno ao hospedeiro em qualquer fase do seu desenvolvimento. A propagação de patógeno pode acontecer por intermédio de fatores ambientais, sendo disseminado de planta para planta, ou através do cultivo de sementes infectadas. No Brasil, a antracnose é considerada a fitopatologia de maior dano, podendo afetar todas as partes da planta, causando prejuízos significativos na produção (CARDOSO; FREIRE, 2002).

Tendo como início do seu ciclo o aparecimento de numerosas lesões denominadas acérvulos, que podem ocorrer nas faces das folhas, nos ramos, nas flores, nos frutos e pseudofrutos. A doença manifesta-se intensamente nas folhas, de modo que as de pouca idade apresentam necroses entre tons avermelhados, possuindo formato irregular e diversos tamanhos, definidos pelo local de ataque dos patógenos. Ao se agravar o nível da doença, as folhas tomam uma conformação envergada e desfigurada, cessando a sua proliferação ao acontecer o amadurecimento das folhas, nesta fase podem ocorrer cortes na área infetada causando assim sua ruptura (Figura 06). Na fase da inflorescência os danos são observados conforme as características citadas da doença, já nos frutos e pedúnculos a mesma manifesta-se como lesões circulares e escuras, causando no pedúnculo uma espécie de fissura seguida de apodrecimento e no seu fruto machucados arredondados e de coloração escura, podendo também ser identificado as fissuras características do pedúnculo (CARDOSO E COLABORDORES, 2013; CARDOSO; FREIRE, 2002; MENEZES, 2005).

Figura 06: Folhas do cajueiro com sintomas da antracnose.



Fonte: Cardoso e colaboradores, 2013.

Menezes (2006) explica o processo de penetração e germinação dos conídios no organismo hospedeiro visto a consistência gelatinosa da membrana que os envolve, a qual é composta por polissacarídeos e proteínas e de grande afinidade com água.

Algumas medidas podem ser tomadas para auxiliar no controle da antracnose estando entre elas a poda e queima do material infectado, diminuindo a inoculação na região. Para controle químico recomenda-se a pulverização com os fungicidas comerciais: benomyl, oxicleto de cobre, hidróxido de cobre e mancozeb. Sendo indicado a pulverização quinzenal das folhas novas no período de afloração e/ou após a incidência dos períodos iniciais chuvosos (MENEZES, 1997).

Tendo em vista as implicações de âmbito ambiental, à saúde humana e resistência dos patógenos causada pelo uso destas substâncias químicas, nos últimos anos existe um aumento na busca por alternativas de controle menos prejudiciais, havendo registros na literatura da aplicação de produtos de origem natural para substituição dos fungicidas comerciais. Entre as vantagens elencadas a esta prática está a pouca toxicidade dos produtos naturais ao homem, animais e ambiente e, em alguns casos, ativação da defesa vegetal. Nesta perspectiva, para o controle da antracnose encontra-se extratos de alecrim pimenta (*Lippia sidoides*), nim (*Azadirachia indica*), alho (*Allium sativum* L.), cebola (*Allium cepa*), melão de São Caetano (*Momordica charantia*), dentre outros, com comprovado potencial

bioativo (ALVES, 2017; CARVALHO, 2010; NUNES, 2011; RIBEIRO; SERRA; ARAUJO, 2016).

2.3 ALGAROBEIRA (*Prosopis juliflora* (Sw))

A *Prosopis juliflora* (Sw) é uma espécie arbórea da família Fabaceae (Leguminosae) da subfamília Mimosoideae, sendo conhecida popularmente como algaroba, algarobeira ou algarobo, pertencente ao gênero *Prosopis* onde segundo Ribaski e colaboradores (2009) existe conhecimento de mais de 40 espécies deste gênero, estando elas distribuídas no continente americano, asiático e africano, sendo encontrada em todo continente americano, com maior concentração nas regiões de semiárido das quais 70% das espécies do gênero estão na América do Sul, sendo 93% originadas da Argentina.

A biodiversidade brasileira está cada vez mais ameaçada, pois a implantação de espécies exóticas sem o controle ou monitoramento do espaço geográfico contribui para extinção da flora nativa. A caatinga, bioma exclusivamente pertencente ao território brasileiro, também tem sofrido impacto ecológico com a invasão em massa de plantas com propriedades alelopáticas e que competem pelos nutrientes do solo e recursos hídricos. As primeiras mudas da algarobeira chegaram no nordeste brasileiro no início da década dos anos de 1940 e atualmente é quase impossível não encontrar árvores robustas de algarobeira nas regiões de semiárido dos estados do Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe, Bahia e norte de Minas Gerais correspondendo cerca de 0,5 milhões de hectares. A algarobeira apresentou uma excelente adaptação visualmente comprovada após décadas e, em consequência, já foi identificada em grande escala em áreas de pouca preservação de vegetação nativa, mantendo-se verde e em bom estado mesmo nos períodos de seca (LIMA, 2009; SANTOS; DIODATO, 2016).

2.3.1 Descrição da *P. Juliflora*

A Figura 07 ilustra a árvore, folhas e frutos da algaroba, Ribaski e colaboradores (2009) descreve esta espécie vegetal como:

Árvore espinhosa ou raras vezes inerme (sem espinhos), apresentando altura de 6 m a 15 m, tronco ramificado com diâmetro à altura do peito

(DAP) variando de 40 cm a 80 cm e copa com 8 m a 12 m de diâmetro. Folhas bipinadas, comumente com poucos pares de pinas opostas; folíolos pequenos e oblongos. Os frutos são indeiscentes, lomentos drupáceos, lineares, falcados; mesocarpo carnudo; endocarpo dividido em compartimentos contendo uma semente em cada; segmento coriáceo para lenhoso [...], sementes ovóides [...], achatadas, com linha fissural nas faces, duras, amarronzadas. As flores são pequenas, actinomorfas, hermafroditas, de coloração branco-esverdeada, tornando-se amarela com a idade.

Figura 07: *P. Juliflora*.



Fonte: Líder Agronomia (2012).

A algaroba é conhecida pela resistência ao estresse hídrico e térmico, o que permite com que a mesma tenha capacidade de se reproduzir em solos pouco férteis, e em que outras culturas não possuem a capacidade de reprodução.

2.3.2 Histórico da *P. Juliflora* no Brasil

A busca por alternativas para a alimentação dos rebanhos da região nordeste fragilizados pelas condições climáticas levou a implantação no século XX de plantas exóticas no Brasil, tendo destaque a *P. Juliflora* pela fácil adaptação a ambientes secos e com escassez de água (BURNETT, 2017).

A ideia da inserção da *P. Juliflora* no nordeste brasileiro partiu do professor J. B. Griffing, diretor de uma escola agrícola do estado de Goiás, que enviou sementes da algaroba, originárias do Novo México, para Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária em Serra Talhada – Pernambuco. O objetivo foi de ofertar uma alimentação rica em proteínas e carboidratos já que a alimentação irregular dos

rebanhos em tempos de estiagem possuía praticamente fibras de palmas e plantas secas. Nos anos seguintes os demais estados nordestinos passaram a semear esta planta, inicialmente vista como milagrosa, devido ao seu potencial para forragem e também de suas múltiplas aplicações no uso da madeira (CUNHA E SILVA, 2012).

Após algumas décadas a algarobeira, do ponto de vista ambiental, foi deixando de ser a solução para o semiárido nordestino e foi ganhando a fama de “vilã”, pois compete fortemente na retirada de água do solo dificultando o desenvolvimento de outras plantas ao seu redor e em consequência a destruição de plantações e espécies nativas (BURNETT, 2017).

Além do impacto ambiental causado pela falta de controle territorial da algarobeira outros fatos negativos se agregaram ao uso da planta. Dentre eles uma doença que afeta os bovinos conhecida popularmente por “cara torta”, causada pela ingestão de 100% da vargem na ração animal. Estudos científicos de caráter biológico e sobre a composição química da planta levaram a crer que os metabolitos secundários da *P. juliflora*, principalmente os alcaloides que são os responsáveis pela toxicidade da planta, são os causadores da doença (TABOSA E COLABORADORES, 2000).

Diversos estudos realizados ao longo do tempo buscaram caracterizar a composição fitoquímica de toda a planta, sendo comprovada a existência de alcaloides em todas as partes. Ao analisar extratos das folhas da *P. juliflora*, foi identificado alcaloides e taninos em sua composição, os alcaloides presentes nas folhas apresentam estruturas piperidínicos (AHMAD E COLABORADORES, 1978 E 1989; CAVALCANTE, 2006; CUNHA, 2012). A tabela a seguir apresenta os alcaloides identificados nas folhas, bem como a sua abundância relativa, sendo constatados os resultados obtidos por Singh e Verma (2012 p 207) e Teixeira (2018 p 28) através dos métodos *Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry (DART-MS)* e *UPLC-QTOFMS*, respectivamente.

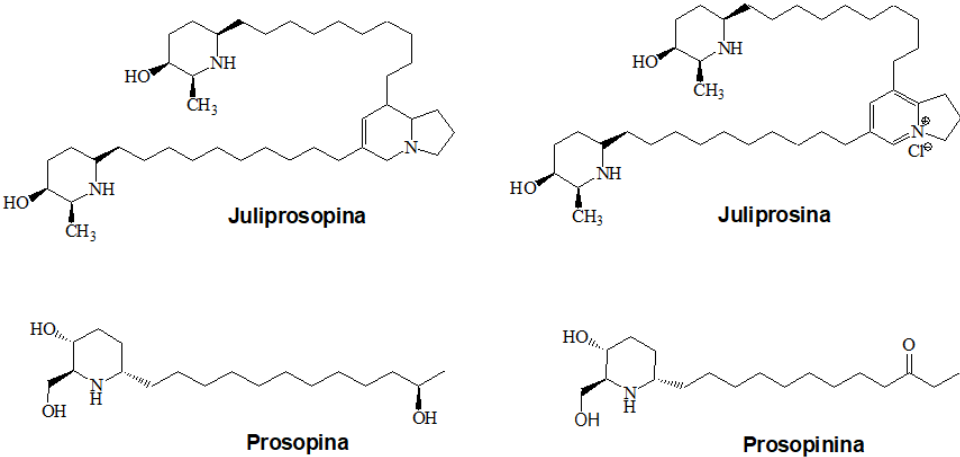
Tabela 01: Alcaloides das folhas da *P. juliflora*.

<i>Alcaloides identificados por Teixeira (2018)</i>	<i>Alcaloides identificados por Singh e Verma (2012)</i>
Juliprosopina	Juliprosopina
Juliprosinina	Juliprosinina
Prosopina	Prosopina
Prosopinina	Prosopinina
Julifloridina	Julifloridina
Prosafrinina	Prosafrinina
Benzamidina	Prosoflorina
Espectalina	Juliprosina
Hidroxispectalina	3-oxo-juliprosina
Spectalinina	Projulina
	3'''-oxo juliprosopina
	N-metil julifloridina

Fonte: Singh e Verma (2012), Teixeira (2018).

A figura a seguir mostra as estruturas dos alcaloides mais abundantes e com maior frequência nas folhas da *P. juliflora* (SINGH; VERMA, 2012).

Figura 08: Alcaloides mais abundantes das folhas da *P. juliflora*.



Fonte: Própria.

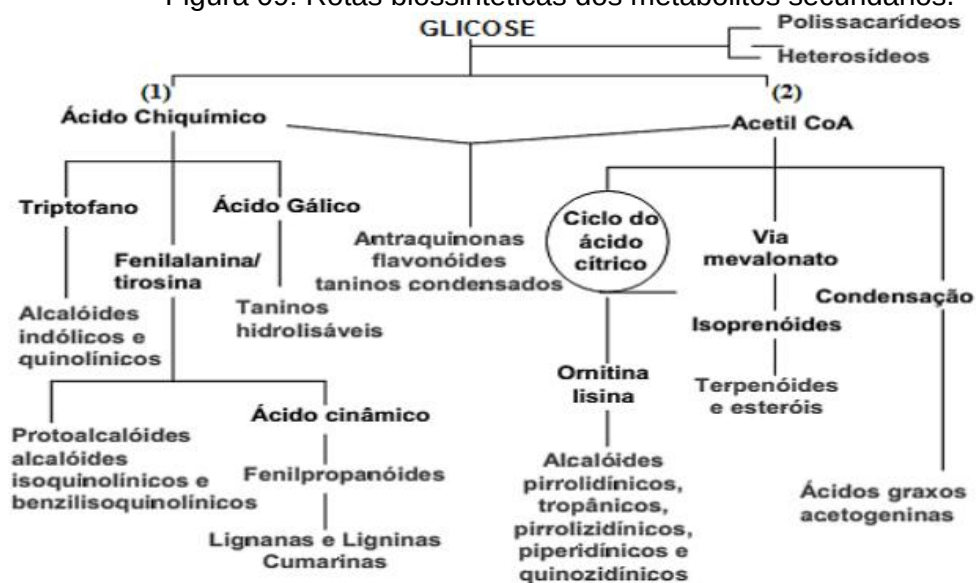
2.4 METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

As reações químicas ocorrentes constantemente nos organismos celulares promovidas em sua maioria por enzimas presentes recebem a denominação de metabolismo. As rotas metabólicas (reações de formação, degradação ou transformação) originam compostos químicos chamados de metabólitos. Os metabólitos exercem funções importantes e indispensáveis nos organismos vivos. Sejam desde as funções básicas e essenciais como as reações bioquímicas, recebendo o nome de metabólitos primários, às funções ligadas à sobrevivência dos organismos e atividades biológicas, os metabólitos secundários (SANTOS, 2007).

Os metabólitos secundários, denominado por muitos de metabólitos especiais, são compostos complexos que desempenham funções não obrigatórias nos organismos, como por exemplo, a proteção contra predadores, reprodução, dentre outras. Sendo reconhecida nos dias atuais como grande aliada do homem por ser fonte de inspiração para indústria farmacêutica, agrícola, alimentícia e cosmética (SANTOS, 2007; KREIS; MUNKERF; PÁDUA, 2017).

O ácido chiquímico (1) e a acetil-CoA (2) são os principais precursores biossintéticos de diversas rotas metabólicas (Figura 09), gerando quatro grandes classes moleculares: os alcalóides, policetídeos, terpenóides e fenilpropanóides (KREIS; MUNKERF; PÁDUA, 2017).

Figura 09: Rotas biossintéticas dos metabólitos secundários.



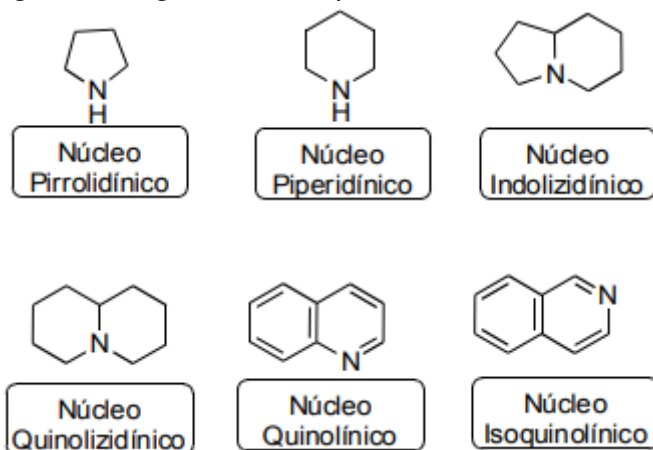
Fonte: Adaptado de Santos (2007).

2.4.1 Alcaloides

Segundo Henriques e colaboradores (2007), cerca de 20% dos metabólitos secundários descritos são compostos por alcaloides, sendo encontrados muitos exemplos no decorrer da história como a execução de Sócrates na Grécia por envenenamento com extrato de cicuta cujo princípio bioativo é a coniina e também bebidas alucinógenas utilizadas em rituais indígenas que despertaram o interesse por suas propriedades bioativas.

Os alcaloides são substâncias de origem natural e grande complexidade, que se comportam como bases de Lewis devido à presença do átomo de nitrogênio, sendo biossintetizados a partir dos aminoácidos ornitina, arginina, lisina, fenilalanina, tirosina e triptofano. Os alcaloides podem ser: alcaloides verdadeiros, os quais possuem um anel heterocíclico sendo o seu heteroátomo o nitrogênio, sendo classificados a partir do anel presente na molécula, como ilustrado na Figura 10; protoalcaloides, moléculas de cadeia acíclica heterogênea, sendo o nitrogênio seu heteroátomo; e pseudoalcaloides, compostos onde o nitrogênio não possui origem em aminoácidos. São conhecidos desde o século XIX e possuem funções de defesa química importantes nos vegetais como repelir animais e insetos em razão do seu caráter tóxico e gosto amargo (BRUNETON, 2001; HENRIQUE E COLABORADORES, 2007; KREIS; MUNKERF; PÁDUA, 2017).

Figura 10: Alguns núcleos presentes nos alcaloides.



Fonte: Pinho (2013).

Nos vegetais os alcaloides podem ser biossintetizados em diversas partes dos tecidos e depois direcionados para outros órgãos diferentes. De acordo com Henriques e colaboradores (2007) “os alcaloides são sintetizados nos retículos endoplasmáticos, concentrando-se, em seguida, nos vacúolos e, dessa maneira,

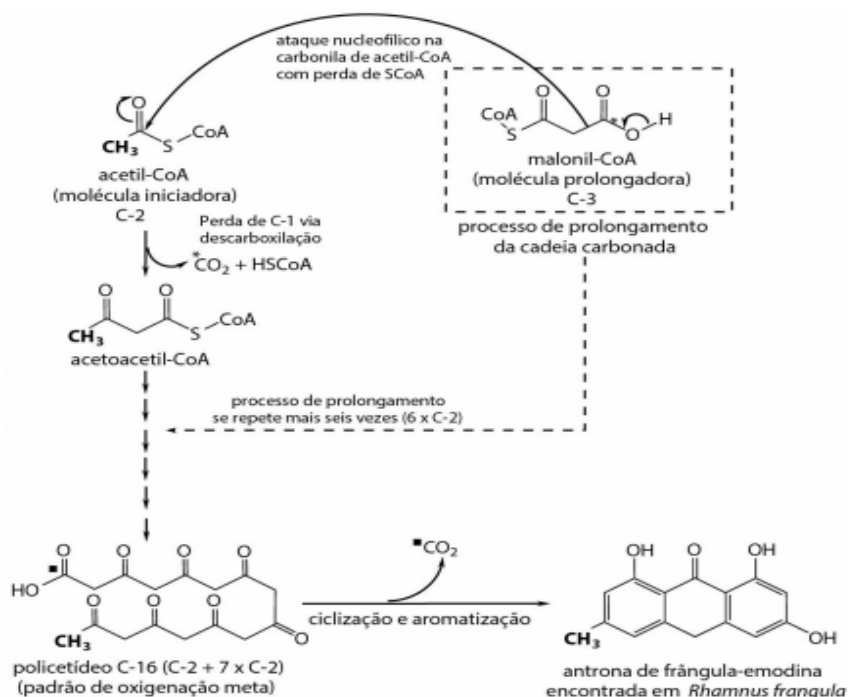
não aparecem em células jovens antes de ocorrer a formação dessas estruturas". Para Bruneton (2001):

Os alcalóides (sic) são geralmente localizados em tecidos periféricos: camadas externas de casca de caule e raiz, revestimento de sementes, etc. [...] Normalmente, a síntese destes alcalóides (sic) é feita ao nível de certos locais (raiz em crescimento, células especializadas dos laticíferos, cloroplastos) e posteriormente transportados para o seu local de armazenamento.

2.4.2 Polícetideos

As substâncias pertencentes a este grupo são geradas a partir da reação combinatória entre unidades de acetilzoenzima A (Figura 11) resultando em compostos com oxigênios alternados em suas estruturas, podendo ser encontrados em cadeias alifáticas reduzidas, os β -carbonílicos, e cadeias aromáticas, poliindoxiladas. Estes compostos podem ser encontrados na natureza em microrganismos marinhos e terrestres, apresentando atividades antibacteriana, citotóxica, anticolinesterásica, dentre outras (DEWICK, 2002; KREIS; MUNKERF; PÁDUA, 2017).

Figura 11: Exemplo da biossíntese de um metabólito secundário (antranoide) via regra do acetato.

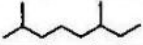
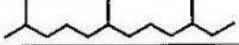
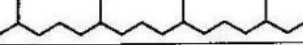
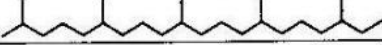


Fonte: Kreis, Munkerf e Pádua (2017).

2.4.3 Terpenos e terpenóides

Segundo Simões e Spitzer (2007) as moléculas pertencentes a este grupo são originadas pela condensação de unidades de isopreno, composta por cinco carbonos. A classificação deste grupo de moléculas depende da quantidade de átomos de carbonos na estrutura molecular, que pode ser monoterpenos/oides com 10C a polisoprenos/oides com mais de 40C (Tabela 02).

Tabela 02: Condensação de unidades de isopreno na formação de terpenóides.

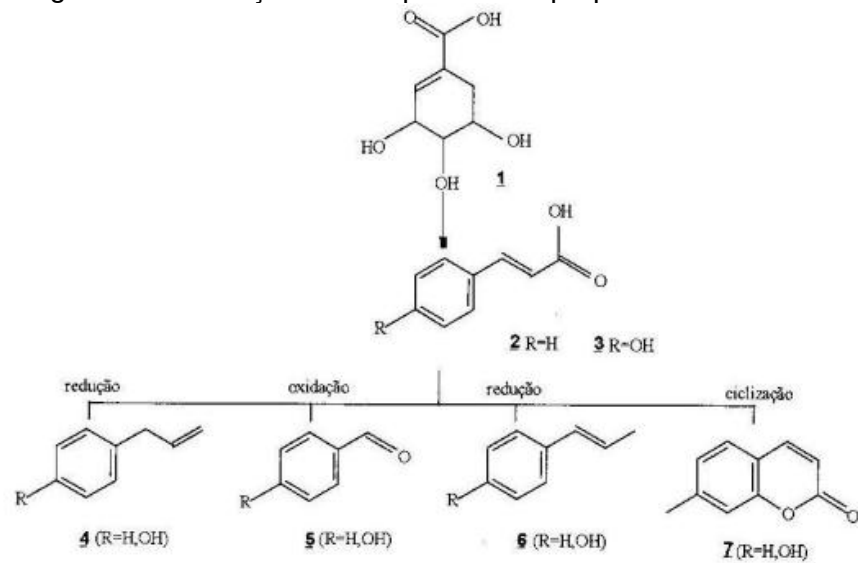
Nº de Unid.	Número de átomos de carbono	Nome ou classe
1	5 	isopreno
2	10 	monoterpenóides
3	15 	sesquiterpenóides
4	20 	diterpenóides
5	25 	sesterpenos
6	30 	triterpenóides
8	40 	tetraterpenóides
n	n	polisoprenóides

Fonte: Simões e Spitzer (2007).

2.4.4 Fenilpropanóides

Os fenilpropanóides possuem em sua estrutura blocos de construção C_6C_3 biossintetizados pela rota do ácido chiquímico formando assim os ácidos cinâmico e *p*-cumárico que podem sofrer reações (Figura 12) de redução, oxidação e ciclização, para gerar ácidos fenólicos, fenóis, cumarinas, etc (KREIS; MUNKERF; PÁDUA, 2017; SIMÕES; SPITZER, 2007).

Figura 12: Formação de compostos fenilpropanóides.



Fonte: Simões e Spitzer (2007).

Simões e Spitzer (2007) e Moraes (2009) salientam que os óleos voláteis ou essenciais são formados por substâncias derivadas de terpenóides e fenilpropanóides, ressaltando que a composição dos óleos depende de fatores de âmbito genético, bióticos, abióticos e técnicos.

3 METODOLOGIA

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Química (LAQUIM) e no Laboratório de Biologia (LABBIO) da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), entre os meses setembro de 2018 e junho de 2019, seguindo o diagrama 01.

Diagrama 01: Sequência metodológica até a obtenção da FAT.



3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

As partes aéreas da *P. Juliflora* foram coletadas no sítio Xavier, zona rural do sertão paraibano, localizado na cidade de Juru – Paraíba localizado nas coordenadas Lat. -7,567537 / Log. -37,812334, em setembro de 2018 no período da manhã. O material coletado foi armazenado em sacos de papel e encaminhado para o Laboratório de Química (LAQUIM) da Unidade Acadêmica de Serra Talhada (UAST), Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

3.2 SECAGEM

O material vegetal foi devidamente pesado em uma balança analítica da marca ACCULA e posteriormente levado a estufa de secagem da marca New Lab, a temperatura de 45°C por 48h.

3.3 MOAGEM

As folhas secas da *P. Juliflora* foram separadas do pecíolo e, em seguida, trituradas em liquidificador doméstico. O material vegetal foi peneirado com uma peneira granulométrica ASTM 18 TYLER/MESH 16 e, logo depois, foi armazenado em recipiente de plástico devidamente fechado.

3.4 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA QUALITATIVA

Testes fitoquímicos preliminares foram realizados em extratos aquosos e etanólicos para detectar as classes de metabólitos secundários seguindo as metodologias propostas por Barbosa (2001) e Mattos (2009) com algumas adaptações. Assim, os extratos foram preparados a partir de 10 g do material vegetal seco e triturado suspensos em 40 mL de água destilada e álcool etílico 70%, respectivamente, sob agitação mecânica durante 1 hora e em seguida coletados após filtração a vácuo. O extrato etanólico foi diluído para 100 mL e para cada teste fitoquímico, realizados em duplicata, foram transferidos 2 mL dos extratos para tubos de ensaio.

a) Compostos fenólicos

Para a identificação de compostos fenólicos foi utilizado 5 gotas de uma solução aquosa de cloreto férrico a 1%. Este teste confirma a presença de fenóis ao se observar a variação na coloração entre o azul e o vermelho, de taninos hidrolisáveis ao se obter uma precipitação de coloração azul e verde para taninos catéquicos (BARBOSA, 2001).

b) Taninos

Foi adicionado a cada extrato 2 gotas de ácido clorídrico diluído e 5 gotas da solução de gelatina a 2,5% saturada em NaCl. A formação de precipitado é o indicativo da presença de taninos.

c) Flavonoides

Realizou-se o teste de Shinoda o qual consiste na adição de 1 mL de ácido clorídrico concentrado e 1 cm de fita de magnésio a ambos os extratos, para o extrato aquoso foi adicionado 1 mL de álcool etílico. A formação de uma coloração rosa é o indicativo da presença de flavonoides.

d) Flavonoides por classe

Para cada teste foi transferido 2 mL do extrato aquoso e etanólico para tubos de ensaio. Para a avaliação dos flavonoides por classes o pH de cada extrato foram ajustados com ácido clorídrico (HCl) e hidróxido de potássio (KOH) concentrados nas faixas de pH 3, 8,5 e 11. A seguinte tabela porta informações quanto a determinação das classes de flavonoides nos determinados pH.

Tabela 03: Resposta padrão aos testes de identificação da classe de antocianinas, antocianidinas e flavonoides conforme mudança de coloração.

<i>Constituinte</i>	<i>pH 3</i>	<i>pH 8,5</i>	<i>pH 11</i>
<i>Antocianinas e antocianidinas</i>	Vermelho	Lilás	Azul púrpura
<i>Flavonas, flavonóis e xartonas</i>	-	-	Amarelo
<i>Chaleanas e Aureanas</i>	Vermelho	-	Vermelho púrpura
<i>Flavononois</i>	-	-	Vermelho laranja

Fonte: Barbosa (2001).

e) Alcaloides

Para comprovar a presença de alcaloides foi utilizado os reagentes de Dragendorff, Mayer e Bouchardat, sendo adicionado 5 gotas de cada reagente em três tubos de ensaio contendo os extratos da espécie em análise, sendo considerado positivo aqueles que apresentasse formação de complexos insolúveis de coloração laranja avermelhado para o reativo de Bouchardat, vermelho tijolo para Dragendorff e branco para Mayer.

f) Saponinas

Em dois tubos de ensaio devidamente fechados, 2 mL do extrato aquoso e etanólico foi agitado vigorosamente por cerca de 2 minutos. O teste é considerado positivo para saponinas se a camada de espuma resultante do processo então descrito persistir por aproximadamente 15 minutos.

g) Esteroides

Para os testes de esteroides e triterpenos foi obtido a fase orgânica dos extratos aquosos e etanólicos, através de uma extração líquido – líquido. Assim, foram adicionados 10 mL de clorofórmio em 10 mL de extrato aquoso e, para o extrato etanólico, 10 mL de água após o clorofórmio. Depois de obtida a fase orgânica, a mesma foi filtrada em papel de filtro com sulfato de sódio anidro.

O teste de esteroides foi realizado através da reação de Lieberman – Burchard onde 2 mL da fase orgânica filtrada foi transferida a um tubo de ensaio, acrescentando-se a este 2 mL de anidro acético, o qual foi agitado cuidadosamente. Em seguida, foi adicionado 1 mL de ácido sulfúrico concentrado a solução, considerando-se o teste positivo ao se obter uma coloração azul ou verde.

h) Triterpenoides

Para a identificação de triterpenos foi utilizado a reação de Salkowski, que consiste na adição de 2 mL da fase orgânica a um tubo de ensaio e adicionado, lentamente, 1 mL de ácido sulfúrico concentrado. Ao se obter uma coloração amarelo ouro, vermelha ou roxa, obtêm-se resultado positivo para triterpenos.

3.5 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO

Num primeiro momento o extrato foi obtido a partir da maceração (extração a frio) por 48h, seguindo a metodologia de Tabosa (2000) com algumas modificações, onde 100 g das folhas secas e trituradas da *P. Juliflora* foram suspensas em 300 mL de álcool etílico 70% num Erlenmeyer em temperatura ambiente por 48h. Após o tempo proposto o extrato etanólico foi obtido por meio de filtração à vácuo e em seguida o solvente foi retirado em evaporador rotativo a pressão reduzida resultando no extrato bruto concentrado.

3.6 OBTENÇÃO DA FRAÇÃO DE ALCALOIDES TOTAIS

Para a obtenção da fração de alcaloides totais (FAT), o extrato bruto seco e concentrado foi acidificado com 500 mL de ácido clorídrico a 5% em banho de gelo sob agitação durante 1 hora com auxílio de uma barra magnética e um agitador magnético e em seguida o filtrado foi coletado após filtração a vácuo. (TABOSA E COLABORADORES, 2000). Em um funil de decantação a solução aquosa ácida foi submetida a uma partição (duas vezes) com 250 mL de clorofórmio e após coleta da

fase aquosa a fase orgânica foi descartada. Em seguida a fase aquosa ácida desengordurada foi alcalinizada com 58 mL de hidróxido de amônio a 3% em banho de gelo atingindo um pH aproximadamente 11. Logo em seguida, o extrato aquoso alcalino foi particionado (duas vezes) com 250 mL de clorofórmio, num funil de decantação, onde desta vez a fase aquosa foi descartada e a fase orgânica foi secada com sulfato de sódio anidro e por fim levada a evaporação por pressão reduzida obtendo-se então a fração alcaloidal total.

3.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Em cajueiros anão precoce (*Anacardium occidentale* L.) coletou-se folhas, frutos e partes do caule possuindo características sintomáticas típicas da antracnose (citadas no item 2.2.2), em Fátima, Distrito de Flores – PE, sendo armazenadas em sacolas de papel do tipo Kraft e encaminhadas para o Laboratório de Biologia da Unidade Acadêmica de Serra Talhada - Pernambuco (LABBIO/UAST), para aplicação dos ensaios antifúngicos, ocorridos entre os meses de maio e junho de 2019.

3.7.1 Isolamento de Fitopatogênicos

O isolamento e cultivo dos fitopatógenos foram realizados em câmara de fluxo laminar devidamente assepsiada com álcool 70% através de um isolamento direto com infestação, conforme metodologia proposta por Alfena e colaboradores (2007). Pequenos fragmentos lesionados nas folhas, frutos e caules foram retirados (transição entre as partes sadias e doentes), com o auxílio de um estilete em folhas, frutos e partes de caules, em sequência foram transferidos, com auxílio de pinça de ponta fina, para placas de Petri vertidas com o meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), sendo devidamente vedado com papel plástico filme. Para o desenvolvimento e crescimento da colônia, os isolados foram mantidos a temperatura ambiente e submetidos fotoperíodos de 12 horas (claro/escuro) sob luz fluorescente.

3.7.2 Identificação do agente patógeno

A identificação da espécie *Colletotrichum gloeosporioides*, após sete dias de cultivo, foi realizada por método macroscópico e microscópico (FAIA, 2011). Na identificação macroscópica observou-se o desenvolvimento do fungo isolado

levando em consideração as características morfológicas referentes à colônia de crescimento. Para a identificação microscópica seguiu-se as recomendações de Mafia e Alfenas (2007), sendo retirado das colônias já desenvolvidas, com o auxílio de uma alça de ferro devidamente esterilizada, uma pequena amostra da colônia que foi transferida para lâminas microscópicas preparadas com corante azul de Aman, em seguida adicionado cuidadosamente uma lamínula de microscopia. A visualização microscópica deu-se sob objetiva de 40X, constatando-se a formação de hifas e conídios típicos do gênero *Colletotrichum*.

3.7.3 Preparação dos extratos

O extrato aquoso (EAQ) e extrato etanólico bruto (EEB) descrito no tópico 3.4 foram reproduzidos para realização dos testes antifúngicos. Para preparação do extrato alcaloidal (EAL), a fração dos alcaloides totais foi dissolvida em 30 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) a 2%, atingindo uma concentração de $13,6 \text{ mg mL}^{-1}$. Em seguida os extratos sofreram diluição aquosa de 50%. Posteriormente os extratos foram submetidos à esterilização em Luz UV por 15 minutos.

3.7.4 Ensaio preliminares

Os testes preliminares tinham por objetivo a observação de como os experimentos poderiam transcorrer e decidir qual metodologia seria empregada, sendo realizados testes preliminares de difusão de disco e poços na mesma placa de Petri contendo o meio de cultura BDA, sendo utilizados os EEB e EAQ na concentração de 100%, calda bordalesa a 1% (preparada a partir de sulfato de cobre, óxido de cálcio e água) como controle positivo e álcool etílico a 70% e água destilada estéril, respectivamente, como controle negativo.

Utilizou-se a metodologia descrita por Silveira e colaboradores (2009) sendo consideradas algumas alterações, onde foram vertidos 20 mL do meio BDA em placas de petri de 100 x 20 mm e, após o resfriamento, feito 04 poços com o auxílio de um tubo de ensaio de nove mm de diâmetro no meio de cultura, preenchidos com 85µL do EEB, EAQ, calda bordalesa e álcool etílico como controle negativo. Em seguida foi adicionada a superfície do meio de cultura, no sentido oposto aos poços, discos de papel de filtro feitos com perfurador e autoclavados, impregnados dos extratos utilizados para o teste, de água como controle negativo e calda bordalesa. Por fim foi repicado no centro da placa discos do cultivo do *C. gloeosporioides* com

08 dias de crescimento. As placas foram submetidas a períodos de fotoluminescência de 12 horas por seis dias e mantidas a temperatura ambiente.

Após obtenção dos resultados, o método de difusão em poços foi reproduzido em duplicata por apresentar melhor reprodutibilidade, sendo testado o potencial antifúngico do EAL das folhas *P. juliflora* na concentração de 50 e 100% e como controle negativo uma solução composta por 50% de água destilada estéril e 50% de DMSO a 2%.

3.7.5 Análise dos dados dos testes preliminares

A avaliação consistiu na observação do halo de inibição ao decorrer do experimento onde foi realizada, com o auxílio de uma régua milimetrada, a medição do halo de inibição da borda dos poços ao limite de crescimento micelial do fungo.

3.7.6 Ensaios antifúngicos

Para o ensaio antifúngico foi utilizada a metodologia seguida por Nunes (2011) considerando algumas alterações, o qual consistia na adição de cada extrato ao meio de cultura. Para o teste foram utilizadas 3 placas de petri para os EEB, EAL, ambos em concentração de 100 e 50% do extrato, e controles negativos, sendo eles uma solução de água destilada autoclava e DMSO a 2% e álcool 70%. Após o preparo dos extratos, estes foram submetidos a Luz UV por 15 minutos e em seguida adicionado 2 mL de cada extrato a 18 mL de BDA, o qual após ser homogeneizado, foram vertidos nas placas de Petri. Após o resfriamento do meio de cultura foi transferido para o centro da placa de Petri, com o auxílio de uma alça de ferro, micélios do *C. gloeosporioides* de 08 dias de crescimento. As placas foram mantidas a temperatura ambiente e fotoluminescência de 12 horas durante seis dias.

3.7.7 Determinação da percentagem de inibição do crescimento micelial

O crescimento micelial foi realizado a partir da medição com régua milimetrada da colônia fúngica no sentido vertical e horizontal e comparado com o crescimento micelial das colônias nas placas contendo os respectivos controles negativos. A porcentagem de inibição de crescimento foi calculada a partir da seguinte fórmula (MENTEN E COLABORADORES, 1976):

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

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

Após a realização da coleta, secagem, moagem e peneiração da matéria vegetal seca obteve-se 1,100 Kg de amostra coletada, a qual foi utilizada para obtenção dos extratos em duas repetições.

4.2 SECAGEM

O material vegetal é utilizado após a sua desidratação, pois, conforme mostra Falkenberg, Santos e Simões (2007) este processo confere uma estabilização química, sendo importante possuir bastante cautela uma vez que a secagem do mesmo pode acarretar a interrupção de processos metabólitos.

4.3 MOAGEM

Falkenberg, Santos e Simões (2007) evidenciam que o objetivo de diminuir a área do material vegetal, e assim aumentar a superfície de contato, é de facilitar no momento de extração e tornar a operação mais eficiente. A forma e tamanho da moagem se devem as condições do tecido vegetal, o qual quanto mais rígido maior necessidade de divisão.

4.4 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA QUALITATIVA

A Tabela 04 contém informações sobre os resultados dos testes qualitativos fitoquímicos dos extratos das folhas da *P. juliflora*. Foi adotado como “++” os testes onde a precipitação ou coloração foi facilmente visualizada e identificada, como “+” aqueles em que não houve uma grande expressão com clareza e “-” as não precipitadas e sem mudança de coloração característica, os resultados obtidos são comparados com os testes fitoquímicos das folhas da *P. juliflora* realizado por Khandelwal, Sharma e Agarwal (2016).

É importante levar em consideração que os testes fitoquímicos de caráter colorimétricos possuempois os resultados dependem da observação do analista, que podem ser diferentes dos resultados encontrados na literatura. Reginatto (2017) acrescenta que, durante a realização dos ensaios pode ocorrer reações não esperadas, havendo interferências no resultado final, gerando assim erros com resultados falsos-positivo e/ou falsos-negativo.

Tabela 04: Resultado dos testes fitoquímicos da *Prosopis juliflora*.

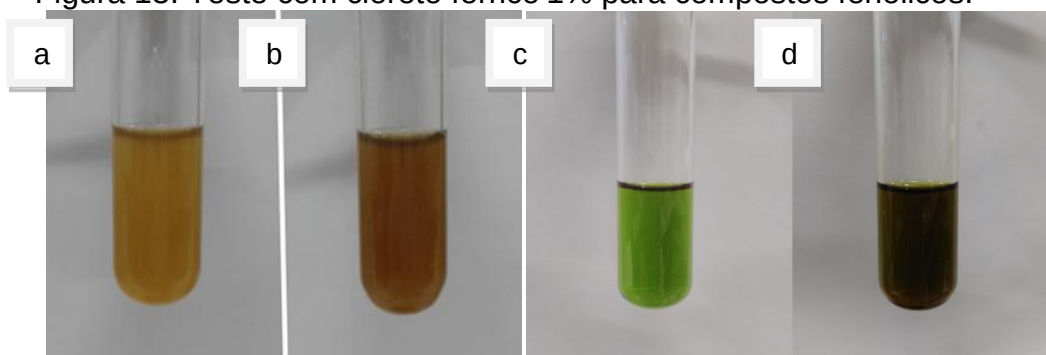
Testes realizados	Reagente/ Metodologia	Extrato aquoso	Extrato etanólico	Testes fitoquímicos do extrato aquoso das folhas da p. Juliflora (khandelwal, sharma e agarwal, 2016)	Testes fitoquímicos do extrato etanólico das folhas da p. Juliflora (khandelwal, sharma e agarwal, 2016)
Compostos fenólicos	Cloreto Férrico 1%	+	+	++	++
Taninos	Gelatina 2,5%	-	+	+	+
Flavonoides	Shinoda	+	+	++	++
Antocianinas e antocianidinas		-	-		
Flavonas, flavonóis e xantonas	Teste de pH	+	+	NR	NR
Chaleanas e Aureanas		-	-		
Flavononois		-	-		
	Reativo de Bouchardat	++	++		
Alcaloides	Reativo de Mayer	++	++	++	+++
	Reativo de Dragendorff	++	++		
Saponinas	Teste da	-	-	-	-

espuma					
<i>Triterpenoides</i>	Salkowski	-	-	++	++
<i>Esteroides</i>	Lieberman – Burchard	-	-	++	++

*Teste classificado pelo autor como de moderada concentração; NR – não realizado.

Os testes para compostos fenólicos não apresentaram um resultado tão precisos visto que, na presença de FeCl_3 a 1% a solução apresentou uma coloração de tonalidade marrom escuro, conforme pode ser observado na Figura 13, enquanto nos testes realizados por Khandelwal, Sharma e Agarwal (2016) houve uma clara expressão. Carvalho, Gosmann e Schenkel (2007) explica a positividade para este teste afirmando que a mudança de coloração existente no decorrer da reação, é uma consequência da oxidação sofrida pelos compostos fenólicos.

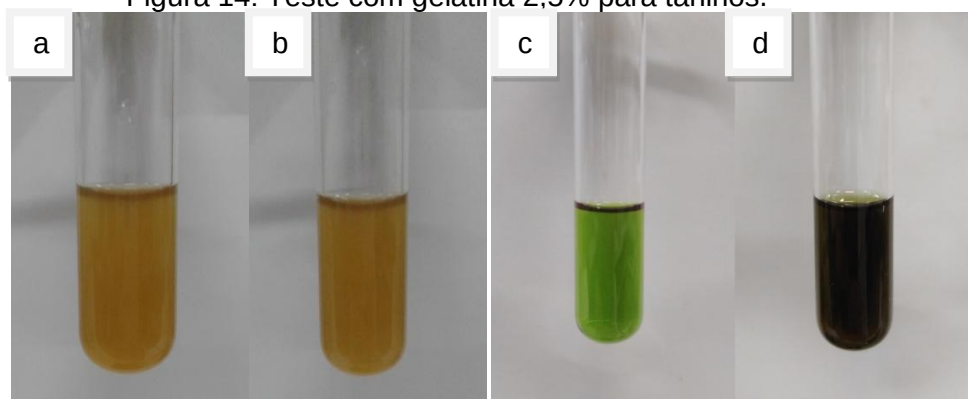
Figura 13: Teste com cloreto férrico 1% para compostos fenólicos.



Fonte: Própria. Legenda: a) extrato aquoso; b) extrato aquoso com cloreto férrico; c) extrato etanolico; d) extrato etanolico com cloreto férrico.

O teste para taninos em extrato aquoso foi classificado como negativo, uma vez que não houve precipitação (Figura 14b), já o extrato etanólico, assim como em Khandelwal, Sharma e Agarwal (2016), apresentou coloração escura, sendo considerado como positivo (Figura 14d). Segundo Haslam e Lilley (1988) a reação para a interação entre a gelatina e o extrato ocorre pela capacidade de formação de complexos insolúveis entre taninos e proteínas.

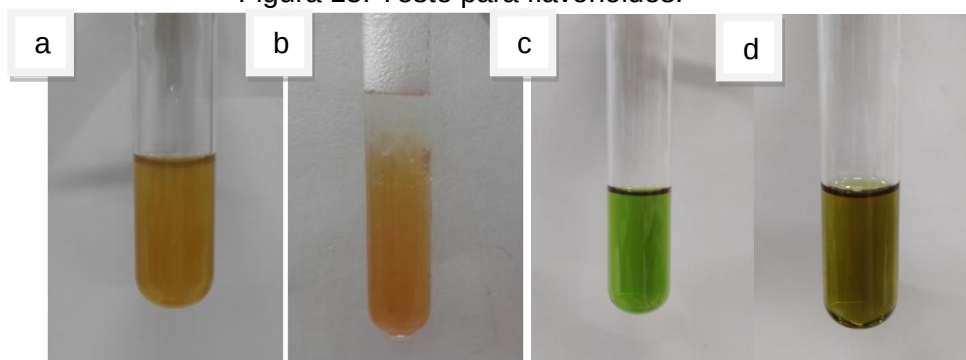
Figura 14: Teste com gelatina 2,5% para taninos.



Fonte: Própria. Legenda: a – extrato aquoso; b – extrato aquoso + gelatina 2,5%; c – extrato etanolico; d – extrato etanolico + gelatina 2,5%.

A reação para flavonoides foi classificada como pouco expressiva, conforme observado na Figura 15b e 15d a mudança de coloração em ambos os extratos não permite uma classificação exata.

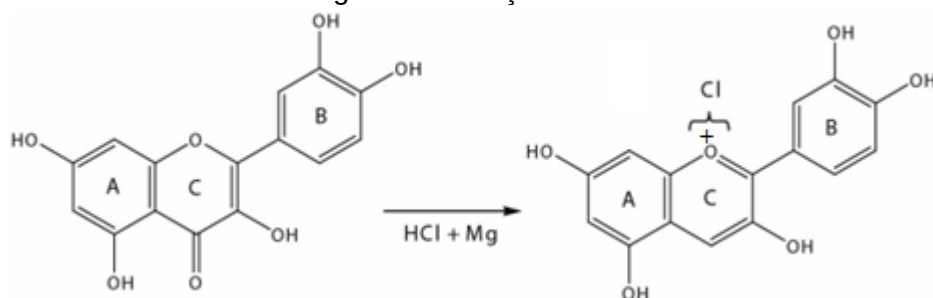
Figura 15: Teste para flavonoides.



Fonte: Própria. Legenda: a) extrato aquoso; b) teste de Shinoda em extrato aquoso; c) extrato etanolico; d) teste de Shinoda em extrato etanolico.

Reginatto (2017) afirma que esta reação é resultado de uma redução dos compostos derivados desta classe, ocorrida estruturalmente no anel C, em compostos antocianos, resultando em uma reação de coloração avermelhada (Figura 16).

Figura 16: Reação de Shinoda.

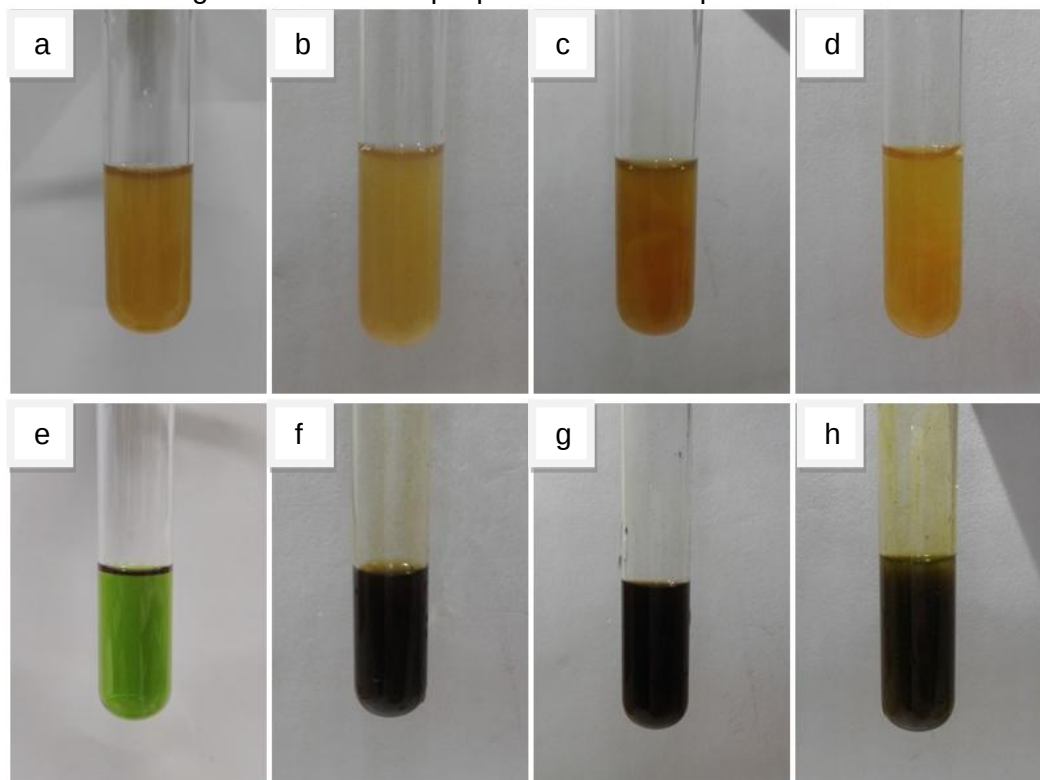


Fonte: Reginatto (2017).

Nos extratos analisados, o teste de flavonoides por classe apresenta-se positivo para a classe das flavonas, flavonóis e xantonas, adquirindo coloração amarelada em pH 11, conforme visto na Figura 17d e 17h. A coloração do extrato etanólico causou interferência na leitura da coloração do pH 11, porém ao observar-se contra a luz comprova-se a coloração amarelada deste.

Zuanazzi, Montanha e Zucolotto (2017) descrevem as diversas classes dos flavonoides com base na oxidação e insaturação do anel C da estrutura básica destes compostos.

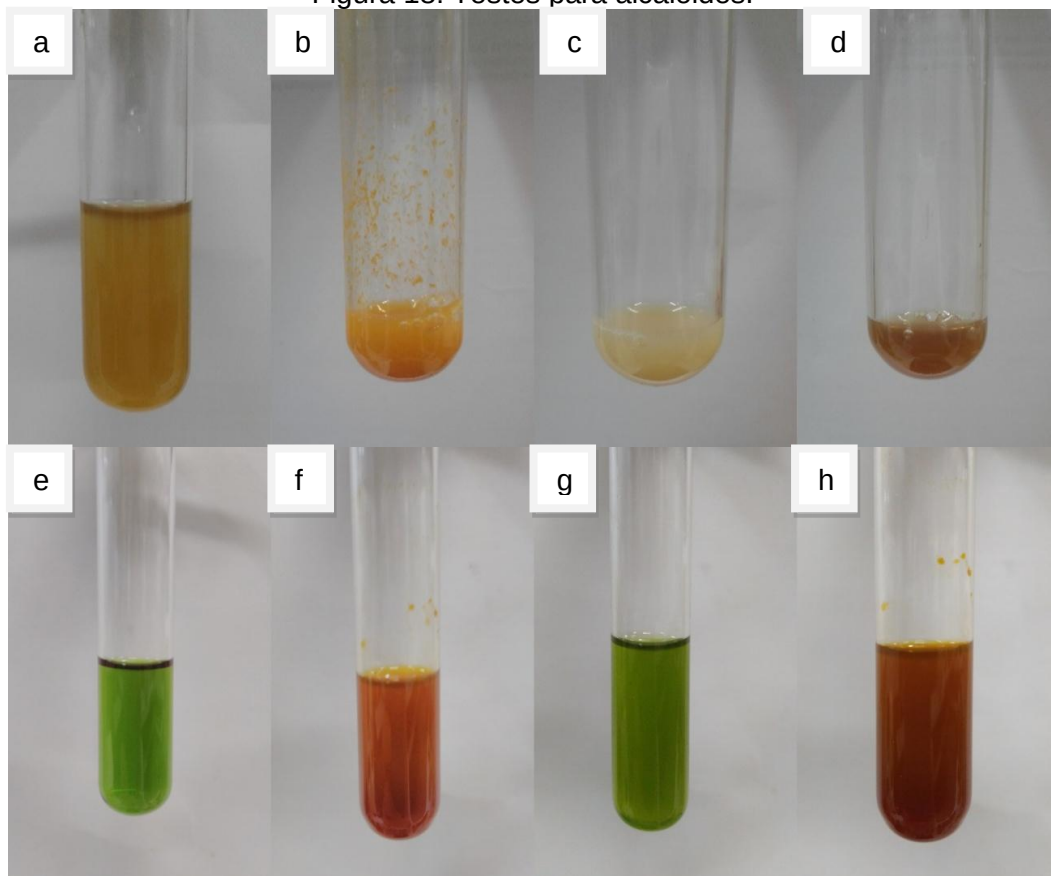
Figura 17: Teste de pH para flavonoides por classes.



Fonte: Própria. Legenda: a) extrato aquoso; b)extrato aquoso com pH 3; c) extrato aquoso com pH 8,5; d) extrato aquoso com pH 11; e) extrato etanólico; f) extrato etanólico com pH 3; g) extrato etanólico com pH 8,5; h) extrato etanólico com pH 11.

Em todos os reagentes utilizados para o teste da presença de alcaloides obteve-se resultados claros e precisos, ao contrário de Khandelwal, Sharma e Agarwal (2016) que obtiveram resultados pouco concentrados. Foi constatada a formação de precipitado na coloração alaranjado para Dragendorff (Figura 18b e 18f), precipitado branco no extrato aquoso (Figura 18c) e esbranquiçado no fundo do tubo de ensaio no extrato etanólico para o reagente de Mayer (Figura 18g) e vermelho amarronzado para Bouchardat para ambos os extratos (Figura 18d e 18h). Henriques e colaboradores (2007) salientam que, a caracterização de positividade obtida com o uso destes reagentes ocorre visto que estando os alcaloides presentes no extrato na conformação de bases, ao ocorrer a reação com mercúrio, ouro, platina e outros metais, componentes dos reagentes utilizados para a identificação, resultam na formação dos complexos, sendo assim possível a observação dos precipitados visualizados.

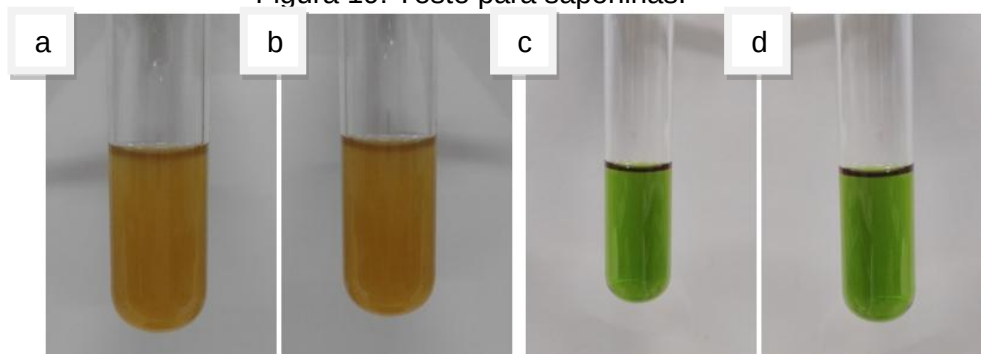
Figura 18: Testes para alcaloides.



Fonte: Própria. Legenda: a) extrato aquoso; b) extrato aquoso com reagente de Dragendorff; c) extrato aquoso com reagente de Mayer; d) extrato aquoso com reagente de Bouchardat; e) extrato etanolico; f) extrato etanolico com reagente de Dragendorff; g) extrato etanolico com reagente de Mayer; h) extrato etanolico com reagente de Bouchardat.

O teste de saponinas foi classificado como negativo para ambos os extratos, visto que, após a agitação a camada de espuma formada não persistiu. A Figura 19b e 19d mostra os extratos após 15 minutos da agitação.

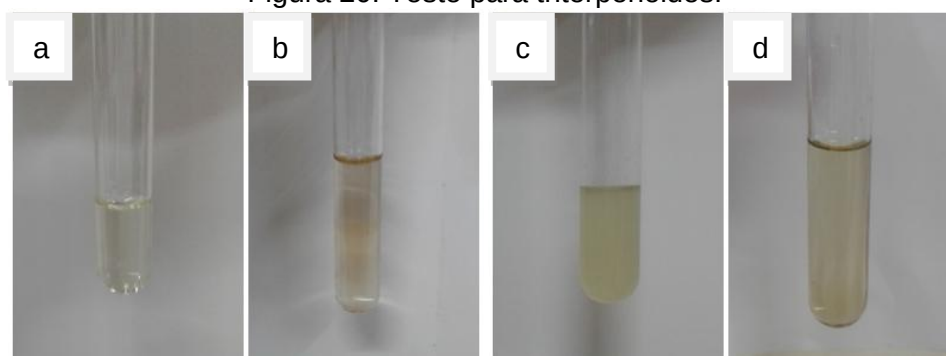
Figura 19: Teste para saponinas.



Fonte: Própria. Legenda: a) extrato aquoso; b) teste de saponinas em extrato aquoso; c) extrato etanolico; d) teste de saponinas em extrato etanolico.

Os resultados obtidos para os testes de triterpenoides não apresentaram mudanças expressivas na coloração, impossibilitando sua classificação, sendo então considerados negativo (Figura 20b e 20d).

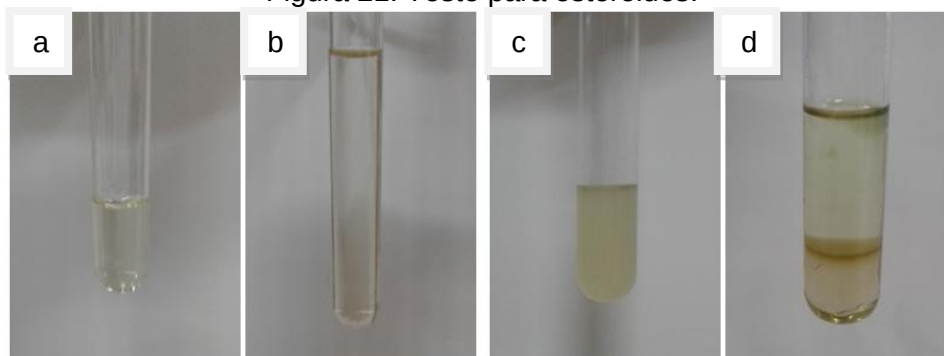
Figura 20: Teste para triterpenoides.



Fonte: Própria. Legenda: a) fase orgânica do extrato aquoso; b) teste para triterpenoides em extrato aquoso; c) fase orgânica do extrato etanolico; d) teste para triterpenoides em extrato etanolico.

Para o teste de esteroides obteve-se resultado negativo nos extratos analisados, visto que, o extrato aquoso (Figuras 21b) não apresentou mudança de coloração após o teste, enquanto no extrato etanolico (Figura 21d) houve a formação de um anel de tonalidade marrom.

Figura 21: Teste para esteroides.



Fonte: Própria. Legenda: a) fase orgânica do extrato aquoso; b) teste para esteroides em extrato aquoso; c) fase orgânica do extrato etanolico; d) teste para esteroides em extrato etanolico.

4.5 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO

No procedimento para obtenção do extrato bruto, o material vegetal foi submerso em etanol por um período de tempo de 48 horas, Falkenberg, Santos e Simões (2007) explica que a rigidez dos tecidos é responsável pela determinação do tempo de extração, além de outros fatores como superfície de contato, temperatura e escolha do solvente, sendo este procedimento responsável pela hidrólise do composto. Em seguida, esta solução foi submetida a evaporação em pressão reduzida para concentração dos componentes então extraídos, Cunha e Barbosa Filho (2014) justificam a razão deste procedimento evidenciando que a utilização do etanol (ou outra substância de caráter alcalino) acontece pelo fato que estas são responsáveis por hidrolisar os sais de alcaloides e desta forma permitir a solubilidade em solventes orgânicos, este procedimento deve ser realizado em temperatura ambiente pelo fato de alguns alcaloides são compostos de caráter termolábeis. Assim, ao finalizar o processo com a evaporação por pressão reduzida, os componentes extraídos durante a imersão em etanol são concentrados e combinados, resulta em uma solução pastosa.

A Tabela 05 porta dados referentes ao rendimento de Extrato Bruto obtido durante as duas extrações realizadas, na qual obteve-se rendimentos aproximados em ambas as repetições.

Tabela 05: Rendimento do Extrato Bruto.

<i>Extrações</i>	Massa do material vegetal seco (g)	Massa do extrato bruto (g)	Rendimento do extrato (%)
<i>Extração 01</i>	300,132	19,563	6,518
<i>Extração 02</i>	400,060	24,980	6,244

4.6 OBTENÇÃO DA FRAÇÃO DE ALCALOIDES TOTAIS

Segundo Henriques e colaboradores (2007) os alcaloides possuem caráter básico graças a presença de um par de elétrons livres proveniente do nitrogênio presente em sua estrutura, comportando-se como uma base fraca. Por este motivo, conforme mostra Cunha e Barbosa Filho (2014), com a agitação dos alcaloides em meio ácido diluído ocorre a protonação destes permitindo a formação de sais, havendo a separação das substâncias não solubilizadas por meio da filtração realizada. A protonação dos alcaloides permite com que os mesmos sejam solubilizados em meio aquoso, sendo explicado por Klein-Junior e Henrique (2017) que os alcaloides são obtidos nesse meio a partir da fase aquosa ácida originária da partição utilizando o clorofórmio como solvente.

Durante a alcalinização da fase aquosa ácida a solução apresenta uma textura mais viscosa, isso pode ser explicado pelo fato de que, conforme aponta Henriques e colaboradores (2007), a alcalinização da fase aquosa ácida permite a liberação do próton adquirido no procedimento anterior, havendo novamente a formação de uma amina livre, o que resulta aos alcaloides voltar a sua conformação inicial e assim a sua precipitação no meio aquoso.

Cunha e Barbosa Filho (2014) explicam que ao submeter a fase aquosa alcalina a partição líquido – líquido com clorofórmio, os alcaloides são solubilizados onde, após a seleção da fase orgânica e evaporação do solvente ocorre a concentração da Fração de Alcaloides Totais (Figura 22). Bruneton (2001) explica que geralmente as plantas que possuem alcaloides em sua composição dispõem de uma combinação de vários tipos deste composto, sendo que apenas um tipo apresenta-se como componente majoritário.

Figura 22: Alcaloides extraídos.



Fonte: Própria.

A Tabela 06 expõe o rendimento de alcaloides adquirido com as extrações realizadas, onde pode-se observar que em ambas obteve-se um rendimento aproximado e satisfatório.

Tabela 06: Rendimento de alcaloides por extração.

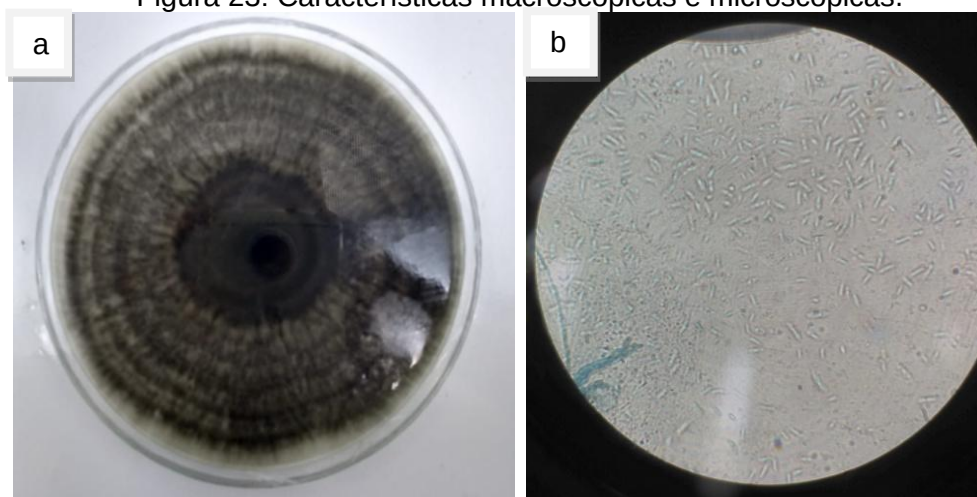
<i>Extrações</i>	Rendimento do extrato (%)	FAT (g)	Rendimento da FAT (%)
<i>Extração 01</i>	6,518	0,705	3,60
<i>Extração 02</i>	6,244	0,735	2,94
<i>Média entre extrações</i>	6,381	0,720	3,27

4.7 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

4.7.2 Identificação dos agentes fitopatogênicos

O microrganismo fúngico coletado em campo e cultivado em meio de cultura BDA apresentou um crescimento micelial rápido, apresentando uma colônia de coloração acinzentada e uma leve camada esbranquiçada em sua superfície (Figura 23a). Pela observação microscópica de um fragmento selecionado, Figura 23b, observa-se os conídios com formato alongado, extremidades arredondadas e sem coloração com características semelhantes as descritas por Menezes (2006) e Pitt e Hocking (2009).

Figura 23: Características macroscópicas e microscópicas.

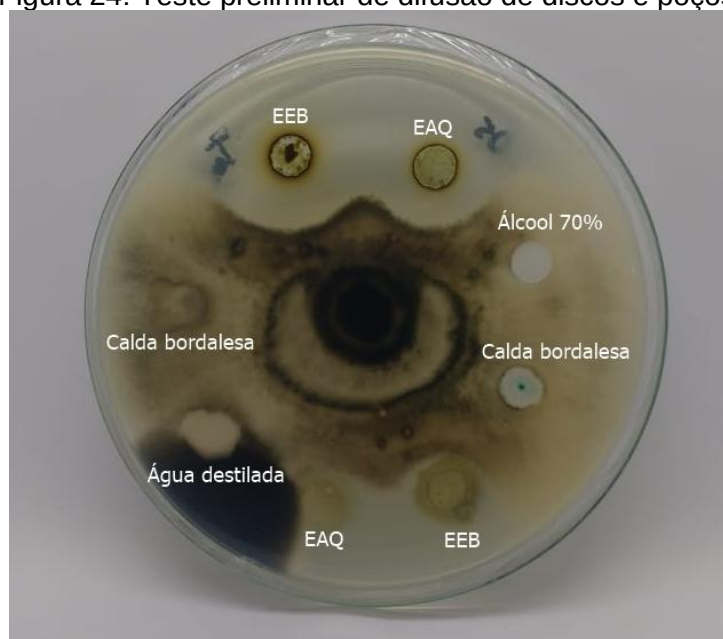


Fonte: Própria. Legenda: a – crescimento micelial do *C. gloeosporioides*; b – conídios do *C. gloeosporioides*.

4.7.5 Análise dos dados dos testes preliminares

Os testes preliminares antifúngicos de difusão de disco e poços foram realizados no mesmo meio de cultura em duplicata. As placas apresentaram pequenos pontos de contaminação, entretanto houve formação de halos de inibição do crescimento micelial nos pontos onde foram adicionados os extratos em ambos os métodos (Figura 24), porém com melhor resultado para o teste de difusão de poços.

Figura 24: Teste preliminar de difusão de discos e poços.



Fonte: Própria.

Os halos de inibição pelo método de difusão de disco e poços foram maiores em EEB, provavelmente pela eficiência de extração, propagação no meio de cultura e estabilidade dos metabólitos em meio alcoólico (Tabela 07). A extração de substâncias de média e baixa polaridade em meio aquoso é limitada e, além disso, apesar da baixa pressão de vapor do solvente, a ação de extratos aquosos tem curto período de tempo em razão da degradação dos metabolitos e, em consequência, diminuição da atividade biológica (BARBOSA, 2001; MATOS, 2009). Não foi necessária a correção dos dados da Tabela 07, pois o controle negativo respectivo a cada extrato não apresentou atividade antifúngica. A calda bordalesa, controle positivo, usada comumente no controle da antracnose (MAZARO E COLABORADORES, 2013), não apresentou atividade antifúngica no meio BDA, pois sua ação não é por contato, ou seja, uma camada de proteção é formada na superfície da planta e, portanto, não há propagação no vegetal.

Tabela 07: Halo de inibição do teste de difusão de disco e poços.

<i>Extrato utilizado</i>	<i>Difusão em poços</i>	<i>Difusão em discos</i>	<i>Controle positivo *</i>	<i>Controle negativo **</i>
<i>EAQ</i>	0,7 cm	0,1 cm	-	-
<i>EEB</i>	1,1 cm	0,2 cm	-	-

* Calda bordalesa; ** Água destilada estéril e álcool etílico a 70%, respectivamente.

Diversos métodos são utilizados para testes microbiológicos, dentre os mais utilizados e classificados como eficientes encontra-se os métodos de difusão em ágar. Pinto et al (2003, apud Ostrosky e colaboradores, 2008, p 302) explicam a relação entre as substâncias em teste e o desenvolvimento dos patógenos:

O teste de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, é um método físico, no qual um microrganismo é desafiado contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido e relaciona o tamanho da zona de inibição de crescimento do microrganismo desafiado com a concentração da substância ensaiada

Estudos comparativos sobre a eficiência dos métodos de difusão em ágar resultaram na conclusão que ambos os métodos são eficazes, porém, o método de difusão em poços demonstra-se mais sensível, seguro e reprodutível, uma vez que,

não é possível determinar com certeza a quantidade de extrato absorvido pelos discos, já os poços possuem uma quantidade de extrato determinada, conferindo a este uma maior confiabilidade nos resultados (MAIA-ARAÚJO E COLABORADORES, 2011; SILVEIRA E COLABORADORES, 2009).

A ação antifúngica de extratos da *P. juliflora* contra diversos patógenos já foi avaliada por alguns autores, dentre eles, Cunha (2012) estudou a atividade antifúngica da *P. juliflora* com extratos hidroalcoólicos de folhas e cascas contra espécies de *Candida*, obtendo melhores para o extrato das folhas. Satish e colaboradores (2007) avaliaram o potencial antifúngico dos extratos aquosos de 52 plantas contra espécies de *Aspergillus*, a *P. juliflora* demonstrou significativo resultado para a espécie *A. niger*. É possível que também espécies de *Colletotrichum* possam ser controladas, tendo em vista a toxicidade dos extratos da folha da algarobeira, cujos metabólitos bioativos são os alcaloides (CUNHA, 2012).

Os novos ensaios foram adaptados, baseando-se nos melhores resultados (com o extrato etanólico e difusão em poços) obtidos no teste preliminar discutido anteriormente. Sendo assim, doses de 85 μL com 0,0 mg mL^{-1} , 6,8 mg mL^{-1} e 13,6 mg mL^{-1} da FAT foram adicionadas aos poços e a formação das zonas de inibição foram acompanhadas por seis dias. Os extratos alcaloidais inibiram o crescimento micelial nas regiões de difusão e, portanto, apresentaram atividade antifúngica, sendo a dose com 13,6 mg mL^{-1} superior em proteção microbiana e mais uma vez na região do controle negativo o crescimento micelial não foi interrompido (Figura 25). Este resultado fortalece o fato que os alcaloides do extrato etanólico são os componentes que contribuem para atividade antifúngica.

Figura 25: Teste antifúngico com extrato alcaloidal.



Fonte: Própria.

Os testes foram feitos em duplicata e a média dos halos de inibição está contida na Tabela 08. As doses aquosas de $6,8 \text{ mg mL}^{-1}$ e $13,6 \text{ mg mL}^{-1}$ da FAT tiveram halos de inibição de 0,75 cm e 0,90 cm, respectivamente, e não houve inibição na região do controle negativo.

Tabela 08: Teste antifúngico de difusão em poços com a FAT em solução aquosa.

<i>Dose</i>	<i>Halo de inibição</i>
<i>Controle negativo</i>	
*	—
$6,8 \text{ mg mL}^{-1}$	0,75 cm
$13,6 \text{ mg mL}^{-1}$	0,90 cm

* Solução aquosa de DMSO 2%.

Como visto, além de boa solubilidade em meio aquoso por meio da utilização do DMSO, tensoativo que ajuda na dissolução, o extrato alcaloidal tem excelente propagação no meio de cultura BDA (BANDEIRA, 1998; SILVEIRA E COLABORADORES, 2009) Assim, levando em consideração o relato de Pinto e colaboradores (2003) e também o potencial tóxico dos alcaloides da *P. juliflora*, acredita-se que estas substâncias possuem atividade contra o crescimento micelial do fitopatógeno por meio da formação de uma barreira física no meio de cultura.

4.7.7 Determinação da percentagem de inibição do crescimento micelial

Outra metodologia foi adotada para aumentar a credibilidade do potencial antifúngico dos alcaloides da *P. juliflora* contra o *C. gloeosporioides*. Desta vez, o EEB e EAL foram diluídos no próprio meio de cultura BDA e em seguida o microrganismo foi inoculado por repicagem. Em todos os casos houve inibição do crescimento micelial quando comparados com o controle negativo, sendo a inibição total provocada com dose 100% de ambos os extratos (Tabela 09).

Tabela 09: Diâmetro médio das colônias no ensaio antifúngico de crescimento micelial.

<i>Extrato</i>	<i>50%</i>	<i>100%</i>	<i>Controle negativo **</i>
<i>EEB</i>	1,35 cm	0 cm	7,07 cm
<i>EAL</i> *	1,75 cm	0 cm	7,02 cm

* Doses adicionadas do EAL ao meio de cultura: 6,8 mg mL⁻¹ (50%) e 13,6 mg mL⁻¹ (100%) da FAT; ** Álcool etílico 70% e solução aquosa de DMSO a 2% autoclavada.

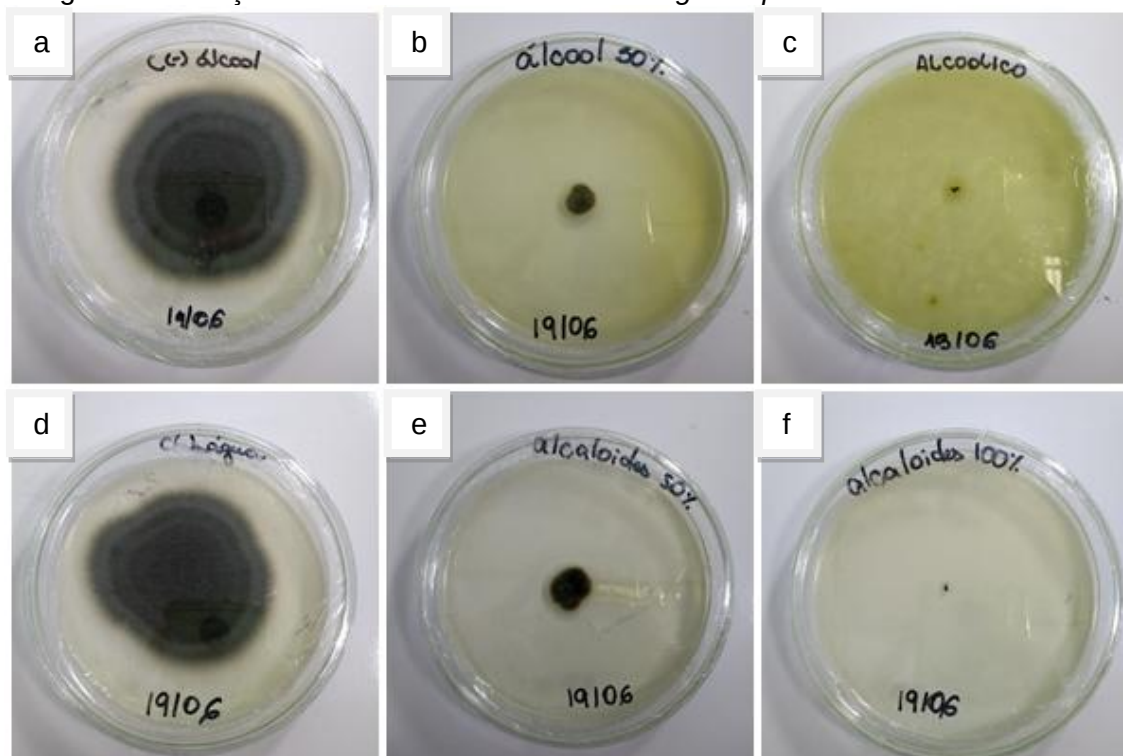
Os valores de inibição do crescimento micelial foram corrigidos e convertidos em PIC (MENTEN E COLABORADORES, 1976). Os extratos com dose de 100% tiveram uma PIC de 100% de eficiência. O valor da PIC diminuiu para 81% (EEB) e 75% (EAL) quando as doses foram reduzidas a metade (Tabela 10 e Figura 26).

Tabela 10: Ensaio antifúngico comparado pela PIC.

<i>Extrato</i>	<i>PIC (%)**</i>
<i>EEB (100%)</i>	100
<i>EEB (50%)</i>	81
<i>EAL (100%)*</i>	100
<i>EAL (50%)*</i>	75

* Doses adicionadas do EAL ao meio de cultura: 6,8 mg mL⁻¹ (50%) e 13,6 mg mL⁻¹ (100%) da FAT. ** Porcentagem de inibição de crescimento.

Figura 26: Inibição do crescimento micelial do *C. gloeosporioides* com uso dos extratos.



Fonte: Própria. Legenda: a – álcool etílico a 70% como controle negativo; b – EEB a 50%; c – EEB a 100%; d – solução aquosa de DMSO a 2% autoclavada como controle negativo; EAL a 50%; EAL a 100%.

Acredita-se que a maior eficiência da PIC do EEB na dose de 50% em relação ao EAL está ligada a presença de outros metabólitos, além dos alcaloides presentes no extrato. Por exemplo, os taninos possuem propriedades de inibição de enzimas de microrganismos, o que pode ter potencializado a ação desse extrato em relação ao EAL (CUNHA, 2012; SANTOS E MELLO, 2007; SCARLBERT, 1991). Uma estimativa do processo do isolamento dos alcaloides, descrita no presente trabalho, leva a crer que a concentração mínima deste metabólito no EEB é de $2,33 \text{ mg mL}^{-1}$, entretanto, a extração ácido-base é realizada em várias etapas e a perda das substâncias alcaloidais é inevitável e, portanto, deve-se considerar que a concentração de alcaloides no EEB seja bem maior. A ação inibitória do EAL pode ser referente à sua atividade direta entre a comunicação intra e intercelular de microrganismos, de modo que ocorrem alterações nas suas reações metabólicas e funções celulares (HENRIQUE E COLABORADORES, 2007).

Outro fator que deve ser levado em considerado são as condições ofertadas para o cultivo *in vitro*. Os fitopatógenos devem ser cultivados em meio nutritivo com a presença de todas as substâncias necessárias para o desenvolvimento e

crescimento dos fungos, além de condições de temperatura, luz, pH e aeração adequadas (ZAUZA; ALFENA E MAFIA, 2007). A interação entre os componentes de caráter básico, como os alcaloides (HENRIQUE E COLABORADORES, 2007), e o meio de cultura pode causar modificações no pH resultando em alterações nas reações químicas entre os microrganismos e o meio, e em consequência dificultando o crescimento micelial.

Os resultados da atividade antifúngica das folhas da *P. juliflora* contra o *C. gloeosporioides* corroboram com trabalhos encontrados na literatura. Alves (2008), por exemplo, testou a atividade antifúngica de extratos aquosos e etanólicos das diversas partes de 16 espécies vegetais, utilizadas popularmente como ervas medicinal. Dentre os tratamentos, obteve-se resultados considerados relevantes ao se utilizar alho, malva e gengibre, perfazendo um percentual de inibição superior a 97%, já o extrato aquoso de cravo da Índia apresentou o menor potencial obtido em todos os tratamentos realizados, inibindo 30,5% do crescimento micelial. Carvalho (2010) testou extratos aquosos de alecrim pimenta, nim e urtiga, resultando a inibição completa do crescimento micelial em todas as concentrações do alecrim pimenta, inibição proporcional à concentração no extrato de nim e efeito reverso com o extrato de urtiga.

A atividade antifúngica dos alcaloides foi avaliada por Aquino (2006), através de ensaios com alcaloides de *Aspidosperma ramiflorum* Muell. Arg e *Aspidosperma tomentosum* Mart em quatro espécies de *Candida* (*C. albicans*, *C. haemulonii*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*) e isolados de *Cryptococcus neoformans*. O extrato alcaloidal apresentou-se ativo em todas as concentrações para *C. krusei* e *C. parapsilosis* e para os isolados de *Cryptococcus neoformans*, mostrando-se relevante, pois esta espécie é resistente a fluconazol, principal medicamento utilizado no tratamento de enfermidades de sua origem.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por meio da prospecção fitoquímica das folhas da *P. juliflora* a presença de compostos fenólicos, flavonoides, flavonas, flavonóis, xantonas e alcaloides no extrato aquoso, e compostos fenólicos, taninos, flavonoides, flavonas, flavonóis, xantonas e alcaloides no extrato etanólico foi detectada.

Os extratos da folha da *P. juliflora* apresentaram efeito antifúngico *in vitro* sobre o fitopatógeno *C. gloeosporioides* em todos os casos testados. A metodologia de difusão em poço levou a melhores resultados em comparação ao método de difusão em disco.

Num primeiro momento o extrato etanólico das folhas da *P. juliflora* foi mais eficiente quando comparado ao extrato aquoso, pois o álcool etílico tem maior capacidade de extrair metabólitos em concentração e quantidade.

Em relação a metodologia de diluição em BDA a dose de $13,6 \text{ mg mL}^{-1}$ do extrato da FAT e 100% do extrato etanólico levou a inibição total do crescimento micelial do fungo. No entanto, a dose de $6,8 \text{ mg mL}^{-1}$ do extrato da FAT resultou na PIC de 75 % e o extrato etanólico diluído a 50% forneceu uma PIC de 81%.

Os ensaios biológicos com o extrato alcaloidal comprovam o potencial tóxico antifúngico dos alcaloides da *P. juliflora* e fortalece a hipótese destes metabolitos secundários serem o princípio ativo nos extratos aquoso e etanólico.

Contudo, é necessário mais estudos sobre a concentração mínima dos extratos da *P. juliflora* no controle do *C. gloeosporioides in vitro* e também ensaios antifúngicos em campo onde serão levados em consideração os fatores ambientais e fisiológicos do *A. occidentale* L.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUIAR, M. de J. N.; COSTA, C. A. R. Exigências climáticas. In: BARROS, L. de M. (Ed.) **Caju**: produção - aspectos técnicos. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. cap. 4, p. 21-25. (Frutas do Brasil, 30).
- AHMAD, V.U.; SULTANA, A. **A terpenoid diketone from the leaves of *Prosopis juliflora***. Phytochemistry, 28(1): 278-279, 1989.
- AHMAD, V. U.; BASHA, A.; HAQUE, W. **New Alkaloids from *Prosopis juliflora* DC. Z. Naturforsch. Ser. B, 33: 347-348, 1978.**
- ALFENAS, A. C et al. Isolamento de fungos fitopatogênicos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa. Ed. UFV, 2007. Cap 2.
- Algaroba. Disponível em: < <http://www.lideragronomia.com.br/2012/02/algaroba.html> >. Acesso em 12/12/2018.
- ALMEIDA, José Inácio Lino de; LOPES, José Gilber Vasconcelos; ARAÚJO, Francisco Edson de. **Produtor de Caju**. Fortaleza: Edições Democrito Rocha, 2002.
- ALVES, Kézia Ferreira. **Controle alternativo da antracnose do pimentão com extratos vegetais**. 2008. 47 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.
- ALVES, Amanda Lucia. Controle alternativo de antracnose no cajueiro. In: **Congresso internacional da diversidade do semiárido**, 2, 2017, Campina Grande. Campina Grande: Realize Eventos & Editora, 2017.
- AQUINO, Elvis Medeiros de. **Análise química e biológica dos alcalóides de *aspidosperma ramiflorum* Muell. Arg. e de *aspidosperma tomentosum* Mart.** 2006. 189 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Química, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006. Cap. 3.
- ARAÚJO, João Pratagil Pereira de. **Caju**: o produtor pergunta, a Embrapa responde. 2. ed. Brasília, DF: Embrapa, 2015.
- BANDEIRA, M.F.C. et al. **Jornal Brasileiro de Clínica Estética e Odontologia**, 3(17): 47, 1998.
- BARBOSA, W. L. R. Manual **para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais**. Universidade Federal do Pará (UFPA). Belém, 2001.
- BARROS, Levi de Moura et al. Botânica, origem e distribuição geográfica. In: BARROS, Levi de Moura. **Caju**: Produção: aspectos técnicos. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. Cap. 3. p. 18-20.

BARROS, Levi de Moura et al. O agronegócio do caju. In: ALBUQUERQUE, Ana Christina Sagebin; SILVA, Aliomar Gabriel da. **Agricultura Tropical**: Quatro décadas de inovações tecnológicas, institucionais e políticas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008. Cap. 6. p. 341-358.

BATATINHA, Maria José M. et al. **Efeitos dos extratos aquoso e metanólico de algaroba sobre culturas de larvas de nematódeos gastrintestinais de caprinos**. Ciência Animal Brasileira, [s.l.], v. 12, n. 3, p.514-519, 29 set. 2011. Universidade Federal de Goiás. <http://dx.doi.org/10.5216/cab.v12i3.3653>.

Bitter rot and anthracnose *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. Disponível em: <https://www.forestryimages.org/browse/subthumb.cfm?sub=9477&area=12&div=2>> Acesso em 23/07/2019.

BORGES, Warley de Sousa et al. A Química de Produtos Naturais do Brasil no Século XXI. **Química Nova**, [s.l.], p.706-710, 3 jul. 2017. Sociedade Brasileira de Química (SBQ).

BRAINER, M.S.C.P.; VIDAL, M.F. **Cajucultura nordestina em recuperação**. Caderno Setorial Etene/Banco do Nordeste (2018).

BRUNETON, Jean. **Farmacognosia**: Fitoquímica Plantas Medicinales. 2. ed. Acribia, S.a., 2001.

BURNETT, Annahid. **A “saga” político-ecológica da algaroba no semiárido brasileiro**. Revista de Estudos Sociais, v. 19, n. 38, 2017.

Caju. Disponível em: <http://www.hortiescolha.com.br/hortipedia/produto/caju>> Acesso em 27/05/2019.

CANNON, P.F. et al. **Colletotrichum – current status and future direcitons**. Stud Mycol. V. 73, p. 181-213, 2012.

CARDOSO, J. E. et al. Doenças do cajueiro. In: ARAÚJO, J. P. P. de (Ed.). **Agronegócio caju**: práticas e inovações. Brasília, DF: Embrapa, 2013. parte 3, cap. 2, p. 217-238.

CARDOSO, José Emilson; FREIRE, Francisco das Chagas de Oliveira. Doenças. In: BARROS, Levi de Moura. **Caju**: Produção: aspectos técnicos. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2002. Cap. 19. p. 132-136.

CARNEIRO, K. O. Isolamento e avaliação da atividade anticolineterásica de alcaloides de *Prosopis juliflora* obtida no semiárido baiano. **Anais Seminário de Iniciação Científica**, n. 21, 2017.

CARVALHO, J.C.T; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. 6. Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. Cap. 20.

CARVALHO, Paulo Roberto Santos. **Extratos vegetais: potencial elicitador de fitoalexinas e atividade antifúngica em antracnose do cajueiro**. 2010. Tese (Doutorado) - Curso de Agronomia (produção Vegetal), Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal – São Paulo, 2010.

CAVALCANTE, G. M.; MOREIRA, A. F. C.; VASCONCELOS, S. D. **Potencialidade inseticida de extratos aquosos de essências florestais sobre mosca-branca**. Pesquisa Agropecuária Brasileira, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 9–14, 2006.

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, jan. 2011.

COSTA, Ana Carla Ferreira; CAVALCANTE, Giani Maria. Atividade antitumoral in vitro de prosopis juliflora frente a células de câncer de mama e câncer de ovário. **Acta Biomédica Brasiliensia**, [s.l.], v. 9, n. 1, p.130-136, 10 abr. 2018. Universidade Iguacu - Campus V. <http://dx.doi.org/10.18571/acbm.161>.

CUNHA, Emídio Vasconcelos Leitão da; BARBOSA FILHO, José Maria. Alcalóides derivados do núcleo isoquinolinico. In: YUNES, Rosendo Augusto; CECHINEL FILHO, Valdir. **Química de produtos naturais: novos fármacos e a moderna farmacognosia**. 5. ed. Univali, 2014.

CUNHA, Luis Henrique; SILVA, Ramonildes Alves Gomes da. **A trajetória da algaroba no semiárido nordestino: dilemas políticos e científicos**. Raízes, v. 32, n. 1, p.72-92, jan. 2012.

CUNHA, Renata dos Anjos. **Avaliação da atividade antifúngica dos extratos hidroalcoólicos da folha e casca de Prosopis juliflora (Sw) S.C. sobre espécies de Candida de interesse médico**. 2012. 25 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2012.

DEWICK, P. M. **Medicinal Naturak Produtos: A Biosynthetic Approach**. Adaptado Por Dewick, Paul M. 2ª ed., John Wiley & Sons Ltd, 2002. 514p.

FAIA, Ana Margarida. **Isolamento e identificação de fungos filamentosos e leveduras em alguns pontos de uma rede de distribuição de água**. 2011. 44 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Celular e Biotecnologia, Universidade de Lisboa, Lisboa, 2011.

FALKENBERG, Miriam de Barcellos; SANTOS, Rosana Isabel dos; SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Ufsc, 2007. p. 229-246.

GOMES, J. **Os Frutos Sociais do Caju**. Brasília-DF: Fundação Banco do Brasil: Nt Mendes Editora, 2010. 231p.

HASLAM, E.; LILLEY, T.H. **Natural astringency in foodstuffs: a molecular interpretation**. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, v.27, n.1, p.1-40,

1988.

HENRIQUES, A. T. et al. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C. M. O. e colaboradores. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. 6. Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. Cap. 29.

HENRIQUES, Amélia Teresina et al. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira e colaboradores. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Ufsc, 2007. p. 765-792.

Herbário virtual. Disponível em

<<http://reflora.ibri.gov.br/reflora/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/BemVindoConsultaPublicaHVConsultar.do;jsessionid=6123CDAABE826631D03F904BB654CA95?http://reflora.ibri.gov.br/reflora/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/BemVindoConsultaPublicaHVConsultar.do;jsessionid=http://reflora.ibri.gov.br/reflora/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/BemVindoConsultaPublicaHVConsultar.do;jsessionid=http://reflora.ibri.gov.br/reflora/herbarioVirtual/ConsultaPublicoHVUC/BemVindoConsultaPublicaHVConsultar.do;jsessionid=qtdMaxima=&modoConsulta=LISTAGEM&quantidadeResultado=20&d-16544-t=testemunhos&d-16544-p=1&genero=Anacardium&especie=occidentale>> Acesso em 27/05/2019.

IBGE – Levantamento Sistemático da Produção Agrícola. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/188>> Acesso em 28/05/2019.

KHANDELWAL, Preeti; A SHARMA, R; AGARWAL, Mala. Phytochemical analyses of various parts of prosopis juliflora. **Mintage Journal Of Pharmaceutical And Medical Sciences**, India, v. 5, n. 3, p.16-18, jul./set. 2016.

KIRK, P.M., Canon, P.F., Minter, D.W. & Stalpers, J.A. 2008. Dictionary of the fungi. CAB International, Wallingford.

KLEIN-JÚNIOR, Luiz Carlos; HENRIQUES, Amélia T. Alcaloides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. Cap. 20.

KREIS, Wolfgang; MUNKERT, Jennifer; PÁDUA, Rodrigo Maia de. Biossíntese de metabólitos primários e secundários. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. Cap. 11.

LIMA, D. L. et al. A questão do semi-árido e o bioma caatinga. In: sustentabilidade, recursos naturais e apropriação do espaço, 2009, Viçosa. **Simpósio Brasileiro de Geografia Aplicada**.

MAFIA, R. G.; ALFENAS, A. C. Preparações e observações microscópicas de espécimes fúngicos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa. Ed. UFV, 2007. Cap 9.

MAIA-ARAÚJO, Y. L. F. et al. Comparação entre duas técnicas utilizadas no teste de sensibilidade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de própolis vermelha. **Scientia Plena**, Sergipe, v. 7, n. 4, 2011.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 3 ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009.

MAZARO, Sérgio Miguel et al. Produção e qualidade de morangueiro sob diferentes concentrações de calda bordalesa, sulfocálcica e biofertilizante supermagro. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 1, n. 34, p. 3285-3294, 2013.

MENEZES, Maria. Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum*. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 3, p.170-179, 2006.

MENEZES, M. & HANLIN, R.T. Apressoria of Brazilian isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*, causal agent of anthracnoses diseases. *Revista de Microbiologia* 27:247–251. 1996.

MENEZES, M.. Doenças do Cajueiro. In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**. 3. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda., 1997. Cap. 18. p. 193-199.

MENEZES, M.. Doenças do Cajueiro. In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda., 2005. Cap. 20. p. 181-184.

MENTEN, J.O.M.; et al. Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. “in vitro”. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.1, n.2, p.57-66, 1976.

MORAIS, L. A. S. de. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v. 27, n. 2, p. 4050-4063, 2009.

NUNES, Guilherme Mafra. **USO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc) DO MAMOEIRO**. 2011. 34 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenheiro Agrônomo, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2011.

OSTROSKY, Elissa A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, p.301-307, 2008.

PAIVA, J. R. de; CRISÓSTOMO, J. R.; BARROS, L. de M. Recursos Genéticos do Cajueiro: Coleta, Conservação, Caracterização e Utilização. [s. l.], 2003.

PINHO, V. D. Abordagens divergentes na preparação de alcalóides. Tese (doutorado em Ciências) – instituto de química de São Carlos. São Carlos: Universidade de São Paulo, 2013.

PINTO, Angelo C. et al. **Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas**. Química Nova, [s.l.], v. 25, p.45-61, maio 2002. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422002000800009>.

Pinto TJA, Kaneko TM, Ohara MT 2003. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 2.ed. São Paulo: Atheneu Editora, 325 p.

PITT, John I.; HOCKING, Ailsa D. **Fungi and Food Spoilage**. 3. ed. Australia: Springer, 2009.

REGINATTO, Flávio H. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed Editora Ltda., 2017.

RIBASKI, Jorge et al. Algaroba (*Prosopis juliflora*): Árvore de Uso Múltiplo para a Região Semiárida Brasileira. In: EMBRAPA. **Comunicado Técnico**. 240. ed. Colombo. 2009.

RIBEIRO, Jennifer Gonçalves; SERRA, Ilka Márcia Ribeiro de Sousa; ARAÚJO, Marcela Uli Peixoto. Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Summa Phytopathologica**, [s.l.], v. 42, n. 2, p.160-164, jun. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/2023>.

SANTOS, J. P.; DIODATO, M. A. Análise da invasão de *Prosopis juliflora* (SW). D.C. na caatinga, município de Fernando Pedroza, Rio Grande do Norte. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 12, n. 1, p. 01-09, 2016.

SANTOS, Rosana Isabel dos. Metabolitos básicos e origem dos metabolitos secundários. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6. ed. Porto Alegre: Ufsc, 2007. p. 403-434.

SANTOS, Suzana da Costa; MELLO, João Carlos Palazzo. Taninos. In: SIMÕES, C. M. O. et al. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. 6. Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. Cap. 24.

SATISH, S. et al. Antifungal activity of some plant extracts against important seed borne pathogens of *Aspergillus* sp. **Journal of Agricultural technology**, v. 3, n. 1, p. 109-119, 2007.

SCALBERT A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**. V.30. 1991.

SERRANO, L. A. L.; OLIVEIRA, V. H. Aspectos botânicos, fenologia e manejo da cultura do cajueiro. In: ARAÚJO, J. P. P. (Ed.). **Agronegócio Caju: práticas e inovações**. Brasília: Embrapa, 2013, parte 2, capítulo 3, p. 77-165.

SERRANO, Luiz Augusto Lopes; PESSOA, Pedro Felizardo Adeoadato de Paula. Aspectos econômicos da cultura do cajueiro. In: Luiz Augusto Lopes Serrano. (Org.).

Sistema de Produção do CAJU. 2ed. Brasília-DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2016. Disponível em:

<https://www.researchgate.net/publication/307957726_Aspectos_economicos_da_cultura_do_cajueiro>. Acesso em 01 de junho de 2019.

SERRANO, Luiz Augusto Lopes; PESSOA, Pedro Felizardo Adeodato de Paula. Aspectos econômicos da cultura do cajueiro. In: SERRANO, Luiz Augusto Lopes. **Sistema de Produção do caju**. 2. ed. Embrapa Informação Tecnológica, 2016. Cap. 1. p. 2-10.

SILVEIRA, Luiz Mário da Silva et al. Metodologias de atividade antimicrobiana aplicadas a extratos de plantas: comparação entre duas técnicas de ágar difusão. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 2, p.124-128, 2009.

SIMÕES, O. M. C.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. Farmacognosia, da planta ao medicamento. 6. Ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. Cap. 18.

SINGH, S.; VERMA, S. K. Study of the distribution profile of piperidine alkaloids in various parts of *Prosopis juliflora* by the application of Direct Analysis in Real Time Mass Spectrometry (DART-MS). *Natural Products and Bioprospecting*, v. 2, n. 5, p. 206–209, 2012. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s13659-012-0069-1>>.

TABOSA I.M et al. **Isolamento biomonitorado de alcalóides tóxicos de *Prosopis juliflora* (algaroba)**. *Revta. Bras. Farmacognosia* 9(10):11-22, 2000.

TEIXEIRA, Damodara Barbosa Vieira. **IDENTIFICAÇÃO DOS ALCALÓIDES PIPERIDÍNICOS DA PROSOPIS JULIFLORA ORIUNDA DE PETROLINA - PE POR UPLC-QTOF-MS**. 2018. 49 f. Monografia (Especialização) - Curso de Química Bacharelado, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

VIDAL NETO, F. das C.; et al. Melhoramento genético e cultivares de cajueiro. In: ARAÚJO, J. P. P. (Ed.). *Agronegócio Caju: práticas e inovações*. Brasília: Embrapa, 2013, parte 7, cap. 2, p. 481-508.

VIDAL, Maria de Fátima. CAJUCULTURA NORDESTINA CONTINUA EM DECLÍNIO. **Caderno Setorial Etene**, Fortaleza, v. 2, n. 22, p.1-11, dez. 2017.

VIDAL, Maria de Fátima. Situação da cajucultura nordestina após a seca. **Caderno Setorial Etene**, Fortaleza, v. 1, n. 4, p.17-25, dez. 2016.

VIEGAS JUNIOR, Cláudio; BOLZANI, Vanderlan da Silva; BARREIRO, Eliezer J.. **Os produtos naturais e a química medicinal moderna**. *Química Nova*, [s.l.], v. 29, n. 2, p.326-337, abr. 2006. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422006000200025>.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A.; ZUCOLOTTTO, S. M. Flavonoides. In: SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira et al. **Farmacognosia: do produto natural ao medicamento**. Porto Alegre: Artmed, 2017. Cap. 15.

ZAUZA, E. A. V.; ALFENAS, A.C.; MAFIA, R. G. Esterilização, preparo de meios de cultura e fatores associados ao cultivo de fitopatógenos. In: ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em Fitopatologia**. Viçosa. Ed. UFV, 2007. Cap 1.