



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO SUL E SUDESTE DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
FACULDADE DE QUÍMICA
CURSO DE CIÊNCIAS NATURAIS

CARME DE SOUSA ARAÚJO

JAYANE SILVA CAMPOS

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Annona muricata* L. (graviola) E AVALIAÇÃO FUNGICIDA FRENTE AO FITOPATÓGENO *Colletotrichum gossypii*.

MARABÁ-PARÁ

ABRIL 2015

CARME DE SOUSA ARAÚJO

JAYANE SILVA CAMPOS

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Annona muricata* L. (graviola) E AVALIAÇÃO FUNGICIDA FRENTE AO FITOPATÓGENO *Colletotrichum gossypii*.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciatura Plena em Ciências Naturais, Faculdade de Química, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará.

Orientadora: Prof^a. Dra. Marilene Nunes Oliveira

MARABÁ-PARÁ

ABRIL 2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Biblioteca II da UNIFESSPA. CAMAR, Marabá, PA

Araújo, Carme de Sousa; Campos, Jayane Silva

Caracterização fitoquímica dos extratos das folhas de *Annona muricata* L. (graviola) e avaliação fungicida frente ao fitopatógeno *Colletotrichum gossypii* / Carme de Sousa Araújo, Jayane Silva Campos; orientadora, Marilene Nunes Oliveira. — 2015.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará, Campus Universitário de Marabá, Instituto de Ciências Exatas, Faculdade de Química, Curso de Licenciatura em Química, Marabá, 2015.

1. Química vegetal – Marabá (PA). 2. Fitoquímicos. 3. Graviola. 4. Produtos naturais. 5. Fungicidas. I. Oliveira, Marilene Nunes, orient. II. Título.

CDD: 19. ed.: 581.19098115

CARME DE SOUSA ARAÚJO

JAYANE SILVA CAMPOS

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DOS EXTRATOS DAS FOLHAS DE *Annona muricata* L. (graviola) E AVALIAÇÃO FUNGICIDA FRENTE AO FITOPATÓGENO *Colletotrichum gossypii*.

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciatura Plena em Ciências Naturais, Faculdade de Química, Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará.

Banca examinadora

Prof^a. Dra. Marilene Nunes Oliveira

Faculdade de Química – UNIFESSPA – Orientadora

Prof^a. Dra. Sheila Maysa da Cunha Gordo

Faculdade de Química – UNIFESSPA – Membro

Prof. Dr. Alcy Favacho Ribeiro

Faculdade de Ciência e Tecnologia – UFPA – Membro

Dedicamos este trabalho a Mauro de Sousa Araújo e Neci Silva Campos (*in memoriam*), por todo o apoio que nos deram, e por todos os ensinamentos que contribuíram para nossa formação pessoal e profissional.

AGRADECIMENTOS

Em Primeiro lugar, ao todo poderoso Deus, pelas bênçãos alcançadas em nossas vidas porque sem fé não existe sentido. As nossas famílias, pelo apoio, ensinamentos e educação que nos proporcionaram e como grandes incentivadores nessa importante etapa de nossas vidas, sempre nos ajudando quando precisamos, mostrando que com luta e esforço somos capazes de alcançar aquilo que queremos.

À professora Dra. Marilene Nunes Oliveira, que nos concedeu a oportunidade de desenvolver esse trabalho, pela paciência, por nos acolher e aceitar nos orientar, pelo profissionalismo, dedicação e por nos mostrar novos horizontes a serem alcançados.

Aos professores que passaram pela grade curricular, pelo profissionalismo e por todos os ensinamentos, são pessoas por quem temos grande admiração e respeito.

As nossas amigas da turma de ciências naturais pelo apoio, amizade, companheirismo e carinho.

As colegas do Laboratório de química por toda a paciência e incentivo, em especial as alunas Maria Mayrenne Alchoa, Chiscaulen Ribeiro e Marisa Silva.

A Professora Dra. Alessandra Rezende por ter colaborado para a realização dos os ensaios fungicidas juntamente com sua bolsista Selí da Costa Mourão que nos auxiliou em todos os momentos com paciência e profissionalismo.

A Faculdade de Engenharia de Materiais, e a Faculdade de Engenharia Minas e meio Ambiente por ter cedido os Laboratório de Química e Laboratório de Controle Ambiental, sempre que possível para realização deste trabalho.

A Faculdade de Química por ter cedido os Laboratórios, sempre que possível para realização deste trabalho.

A Fundação Casa da cultura de Marabá por nos conceder a identificação e o laudo de confirmação da planta para a realização do trabalho.

A acadêmica Jéssica Marinho, por ter cedido os o material necessário coletados no viveiro Castanheira pertencente à sua família, para realização deste trabalho.

A todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho e que estiveram conosco no decorrer do curso.

Muito Obrigada!

“Obstáculos são aquelas coisas terríveis que vemos quando tiramos os olhos do nosso objetivo.”

Henry Ford.

RESUMO

O uso de produtos naturais, seja na área da medicina ou em outros diversos setores da sociedade, como, por exemplo, a agricultura tem se intensificado nos últimos anos. Nesse contexto, a *Annona muricata* L. conhecida vulgarmente como graviola, pertencente à família Annonaceae, caracterizada por possuir uma rica biodiversidade de substâncias químicas foi utilizada para realização deste trabalho, que consistiu na caracterização química, bem como, avaliação do potencial fungicida dos extratos das folhas jovens e maduras. A coleta do material botânico foi realizada no viveiro castanheira em Morada Nova, Marabá-PA em agosto de 2014. Após a secagem das folhas da *Annona muricata* L.(graviola) foram realizadas extrações por percolação usando metanol como solvente, levando a obtenção de extratos com um rendimento de 72% para folhas jovens e 47,3% para folhas maduras. Na abordagem fitoquímica dos extratos utilizando a metodologia de Barbosa (2004) observou-se o indicativo da presença de fenóis, taninos, flavonoides, catequinas, sesquiterpenolactonas e outras lactonas, carotenoides, esteroides e triterpenoides, depsídeos e depsidonas e saponinas. Na avaliação do potencial fungicida os extratos nas concentrações de 0,2 %, 0,5% e 1% foram testados frente ao fitopatógeno *Colletotrichum gossypii*. Para o controle foram utilizadas placas com o inóculo em meio de cultura BDA, bem como, o inóculo em BDA, óleo mineral e DMSO, uma vez que a mistura óleo mineral e DMSO (na proporção 1:1) foi utilizada no preparo das soluções dos extratos. A partir do bioensaio realizado com o extrato das folhas jovens foi observado percentuais de inibição do desenvolvimento micelial em 46,4%; 39,1% e 28,3% para as concentrações de 0,2%, 0,5% e 1%, respectivamente, e com os extratos das folhas maduras nas mesmas concentração e mesma ordem os percentuais de inibição 50%; 34,1% e 25,4%. A partir da análise de dados obtidos constatou-se que os extratos não possuem efeito inibitório do desenvolvimento micelial, portanto, não possuem potencial para ser utilizado como fungicida.

Palavras- chave: Produtos naturais, *Annona muricata* L, *graviola*, fitopatógenos.

SUMÁRIO

	p.
1 – INTRODUÇÃO	18
2 – OBJETIVOS	19
2.1 – OBJETIVO GERAL.....	19
2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
3.1 – FAMÍLIA Annonaceae	20
3.2 – ESPÉCIE <i>Annona muricata</i> L.....	20
3.3 – PRINCIPAIS CLASSES DE PRODUTOS NATURAIS.....	22
3.3.1– Polissacarídeos	22
3.3.2 – Taninos	23
3.3.3 – Flavonoides	24
3.3.4 – Catequinas	25
3.3.5 – Sesquiterpenolactonas, esteroides e triterpenoides	25
3.3.6 – Carotenoides	26
3.3.7 – Depsídeos e depsidonas	27
3.3.8 – Cumarina	28
3.3.9 – Purina	28
3.3.10 – Saponinas	29
3.3.11 – Fenóis	30

3.4 – FUNGOS FITOPATOGÊNICOS.....	31
3.5 – <i>Colletotrichum gossypii</i>	33
3.6 – FUNGICIDAS.....	35
4 – PARTE EXPERIMENTAL	37
4.1 – COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO	37
4.2 – OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ORGÂNICOS	37
4.3 – CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA.....	38
4.4 – ENSAIOS FUNGICIDAS	42
5 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	43
5.1 – OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ORGÂNICOS	43
5.2 – CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DAS FOLHAS DE <i>Annona muricata</i> <i>L.</i>	43
5.3 – POTENCIAL FUNGICIDA	52
6 – CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS	58
ANEXO I – LAUDO DE COMPROVAÇÃO DA ESPÉCIE	64
ANEXO II – IMAGEM DA EXSICATA DA ESPÉCIE	65

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 – Fruto de graviola - <i>Annona muricata</i> L.....	21
FIGURA 02 – Árvore de graviola - <i>Annona muricata</i> L.....	22
FIGURA 03 – Estrutura de um polissacarídeo (amido).....	23
FIGURA 04 – Estrutura de um tanino.....	24
FIGURA 05 – Estrutura de flavonoide.....	24
FIGURA 06 – Estruturas de catequinas.....	25
FIGURA 07 – Estrutura de um terpeno e de sesquiterpenolactonas.....	26
FIGURA 08 – Estruturas de carotenoides.....	27
FIGURA 09 – Estrutura de depsídeo.....	28
FIGURA 10 – Estrutura de depsidona.....	28
FIGURA 11 – Estrutura de uma cumarina.....	28
FIGURA 12 – Estruturas de purinas.....	29
FIGURA 13 – Estruturas de saponinas.....	29
FIGURA 14 – Estrutura de fenol comum.....	30
FIGURA 15 – Fungos fitopatogênicos.....	31
FIGURA 16 – <i>Colletotrichum gossypii</i>	34
FIGURA 17 – Manejo de fungicida.....	35
FIGURA 18 – Árvore de graviola (<i>Annona muricata</i> L.).....	37
FIGURA 19 – Viveiro Castanheira.....	37
FIGURA 20 – Extratos de folhas de <i>A. muricata</i> L.....	42

FIGURA 21 – Placas inoculadas	42
FIGURA 22 – Resultado: polissacarídeos	44
FIGURA 23 – Resultado: fenóis.	44
FIGURA 24 – Resultado: taninos	45
FIGURA 25 – Resultado: flavonoides.....	45
FIGURA 26 – Resultado: catequinas.	46
FIGURA 27 – Resultado: sesquiterpenolactonas e outras lactonas.....	47
FIGURA 28 – Resultado: carotenoides	47
FIGURA 29 – Resultado: esteroides e triterpenoides.....	48
FIGURA 30 – Resultado: depsídeos e depsidonas	49
FIGURA 31 – Resultado: cumarina.	49
FIGURA 32 – Resultado: saponinas	50
FIGURA 33 – Resultado: purinas.....	50
FIGURA 34 – Desenvolvimento micelial do fitopatógeno <i>Colletotrichum gossypii</i> .	53
FLUXOGRAMA 01 – Obtenção dos extratos das folhas de <i>Annona muricata</i> L..	38
GRÁFICO 01 – Crescimento fúngico em meio de cultura obtido a partir do extrato de folhas jovens de <i>Annona muricata</i> L.....	52
GRÁFICO 02 – Crescimento fúngico em meio de cultura obtido a partir do extrato de folhas maduras de <i>Annona muricata</i> L.	52
GRÁFICO 03 – Índice de crescimento fúngico	54

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BDA	Batata, Dextrose e Ágar
BOD	Demanda bioquímica de oxigênio (Camara incubadora)
DMSO	Dimetilsulfóxido
DNA	Deoxyribonucleic Acid
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FJ	Folhas Jovens
FM	Folhas Maduras
m/v	Relação massa e volume
p.	Página
PA	Pará
UFPA	Universidade Federal do Pará
UNIFESSPA	Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

λ	Lambda
$^{\circ}\text{C}$	Grau Celsius
cm	Centímetro
%	Porcentagem
\pm	Mais ou menos
g	Gramma
mg	Miligramas
ml	Mililitro

MATERIAIS E EQUIPAMENTOS.

- **Materiais diversos:**

Frasco extrator;

Provetas;

Becker's

Erlenmeyers;

Funis;

Balões de fundo redondo;

Pipetas;

Papel filtro;

Gaze;

- **Solventes e reagentes utilizados na caracterização:**

Ácido clorídrico;

Ácido sulfúrico;

Ácido trifluoroacético;

Água destilada;

Anidrido acético;

Cloreto férrico;

Cloridrato de hidroxilamina;

Clorofórmio;

Diclorometano;

Éter etílico;

Hexano;

Hidróxido de amônio;

Hidróxido de potássio;

Hidróxido de sódio;

Iodeto de potássio;

Iodo;

Magnésio em fita;

Metanol;

Peróxido de hidrogênio;

Vanilina;

- **Equipamentos utilizados na caracterização:**

Evaporador rotativo (Marca: QUIMIS; Modelo: Q344B2);

Balança analítica. (Marca: edutec; Modelo 02001002 Capacidade: 220g Precisão: 0,0001);

Liquidificador. (Marca: Britânia);

Bomba de circulação. (Marca: Primatec; Modelo 131B 2,2m³/h - 37lpm 2VC);

Estufa de secagem de bancada com câmara de 60 cm x 50 cm x 50 cm, aproximadamente, (Marca: BIOPAR; modelo S150ST);

Lanterna com lâmpada de emissão de radiação UV $\lambda = 365\text{nm}$. (marca: BOITTON; Modelo: BOIT-LUV01);

Espectrofotômetro de UV – visível GBC 6.0, Software Spectral 7,0 (Marca LEPRON/ UFPA).

- **Substâncias e materiais utilizados para potencial fungicida:**

Dimetilsulfóxido;

Óleo mineral;

Água destilada;

Extratos de *Annona muricata* L.;

BDA;

Placa Petri;

- **Equipamentos utilizados para potencial fungicida:**

Balança analítica - Bioscale ;

Fluxo laminar vertical - Filterflux;

Rabo quente;

Autoclave vertical AV 14- Exportação 220V

Incubadora BOD;

1 – INTRODUÇÃO

No Brasil, a utilização de plantas no tratamento de doenças apresenta, fundamentalmente, influências de cultura indígena, africana e, naturalmente, européia. Os índios utilizavam a medicina natural dentro de uma visão mística, em que o pajé ou feiticeiro da tribo fazia uso de plantas entorpecentes para sonhar com espírito que lhe revelaria então a erva ou o procedimento a ser seguido para a cura do enfermo e, também, pela observação de animais que procuravam determinadas plantas quando doentes (MARTINS et al., 2003).

No século XX, o surgimento dos antibióticos produzidos por fermentação microbiana aliado ao desenvolvimento marcante de fármacos sintéticos produzidos pela indústria farmacêutica, logo depois da grande guerra, foram causas marcantes no declínio do uso de plantas medicinais, e conseqüentemente, no investimento em fármacos de origem vegetal. Nas últimas décadas, uma importante mudança no paradigma das sociedades ocidentais fez com que os produtos de plantas passassem novamente a ocupar papel de destaque por grandes contingentes das populações de países desenvolvidos e em desenvolvimento (MONTANARI e BOLZANI, 2001).

Mais de uma centena de compostos derivados de produtos naturais está em fase de testes clínicos, principalmente para tratamento de câncer e de doenças infecciosas. Além disso, um total de 13 fármacos derivados de produtos naturais foram aprovados para utilização clínica entre 2005 e 2007 (COSTA-LOTUFO et al., 2010).

Portanto, faz-se necessário a busca por produtos naturais que possam ser utilizados na indústria farmacêutica, na agricultura e na pecuária, visando minimizar os danos ao ambiente e a saúde humana causados pelo uso de produtos sintéticos.

Neste contexto, pretende-se contribuir para o conhecimento da biodiversidade da Amazônia caracterizando tanto do ponto de vista químico, quanto do biológico o extrato de *Annona muricata* L.

2 – OBJETIVOS

2.1 – OBJETIVO GERAL

Contribuir com os estudos da biodiversidade brasileira através da caracterização química e estudo biológico dos extratos de *Annona muricata* L.

2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obter extratos das folhas jovens e maduras de *Annona muricata* L.
- Submeter o extrato à caracterização fitoquímica;
- Analisar o potencial fungicida dos extratos de *Annona muricata* L. frente ao *Colletotrichum gossypii*.

3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 FAMÍLIA Annonaceae

A família Annonaceae pertence ao grupo das plantas Eudicotiledôneas, clado das magnolídeas. Esse clado é constituído por quatro ordens: Canellales, Laurales, Magnoliales e Piperales, sendo a ordem Magnoliales representada pelas famílias Magnoliaceae, Myristicaceae e Annonaceae. As anonáceas estão sistematicamente inseridas na classe Magnoliopsida e subclasse Magnolidae (BARON, 2010).

Annonaceae é muito rica na biodiversidade de substâncias químicas como: substâncias aromáticas, ácidos fenólicos, taninos, flavonoides, substâncias benzênicas, catequinas, proantocianidina, óleos essenciais, terpenos, esteroides, alcaloides, acetogeninas, carboidratos, lipídios, proteínas, lactonas, vitaminas, carotenos, saponinas, entre outros (LUNA, 2006).

Algumas espécies são usadas na medicina popular para várias finalidades e em estudos químicos e farmacológicos, apesar de escassos, têm demonstrado que algumas espécies apresentam importantes compostos bioativos (PINHEIRO, 2009). Conhecida principalmente por seus frutos cosmestíveis, tais como a fruta do conde ou ata (*Annona squamosa* L.) e a graviola (*Annona muricata* L.), algumas espécies fornecem madeira própria para carpintaria e raízes utilizáveis como cortiças (*Annona glabra* L., *Annona crassiflora* Mart.); outras são consideradas medicinais. (LOBÃO, 2005; RINALDI, 2007).

3.2 ESPÉCIE *Annona muricata* L.

Pertencente à família das Annonaceae é conhecida popularmente por vários nomes como: graviola, araticum, araticum-de-comer, araticum-do-grande, araticum-manso, areticum, coração-de-rainha, corossol, fruta-do-conde, graviola-do-norte, guanaba, guanababo, jaca-de-pobre, jaca-do-Pará, jaqueira-mole e pinha.

A *Annona muricata* L. (Figura 02, p. 22) tem como características gerais de uma árvore de até 8 m de altura, dotada de copa piramidal, com folhas longas, compridas e brilhantes, medindo 8-15 cm de comprimento. Flores solitárias, com cálice de sépalas triangulares e pétalas externas grossas de cor amarelada. Os frutos (Figura 01, p. 21) do tipo baga, tem superfície ouriçada, de 25-35 cm de

comprimento, com polpa mucilaginosa e levemente ácida. Originária da América tropical, principalmente Antilhas e América Central, é amplamente cultivada em todos os países de clima tropical, inclusive no Brasil, principalmente nos estados do nordeste. Seu principal uso está na indústria de polpas alimentícias para refrescos e sorvetes. A literatura etnofarmacológica registra vários usos medicinais, todos baseados na tradição popular que lhe atribui várias propriedades, embora a eficácia e a segurança de suas preparações não tenham sido, ainda, comprovadas cientificamente (LORENZI e MATOS, 2002).

A *Annona muricata* L. é considerada uma boa fonte natural de antioxidantes, sendo todas as suas partes utilizadas na medicina tradicional (BASKAR; RAJESWARI e KUMAR, 2007). Uma das maiores descobertas sobre a graviola foi a sua capacidade de agir contra células cancerígenas, mostrando em testes de laboratório um potencial extraordinário. Essa propriedade é consequência das acetogeninas presentes na graviola. Uma terapia natural em complemento às terapias tradicionais, como quimioterapia e radioterapia, está sendo investigada por não provocar efeitos secundários severos, como náuseas e perda de cabelo, efeitos estes decorrentes da quimioterapia. Evitar possíveis infecções protegendo o sistema imunológico também está sendo considerado possível com o uso da graviola, porque, diferente da quimioterapia, esta espécie é seletiva, não destrói células saudáveis (SOUZA, 2009).

Figura 01: Fruto de graviola - *Annona muricata* L.



Fonte: Araújo e Campos, 2014 .

Figura 02: Árvore de graviola - *Annona muricata* L.



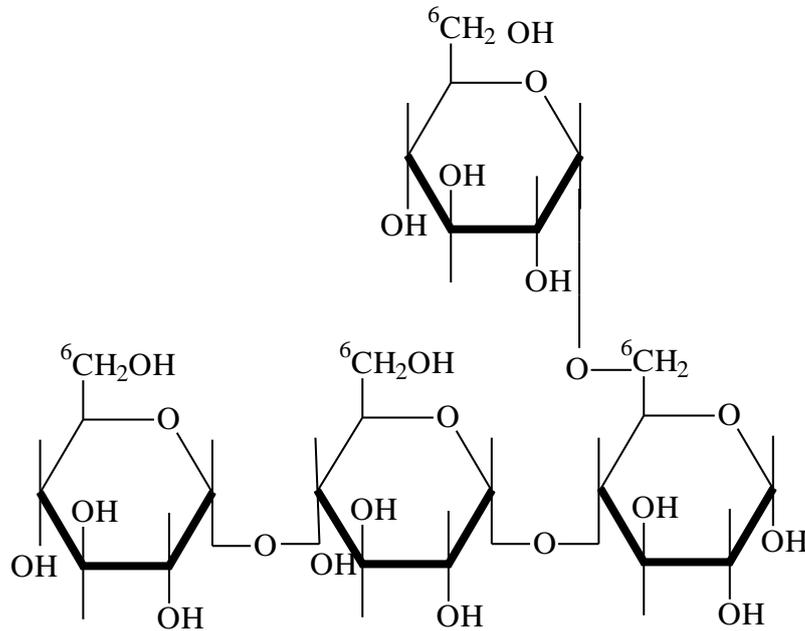
Fonte: Araújo e Campos, 2014.

3.3 PRINCIPAIS CLASSES DE PRODUTOS NATURAIS

3.3.1 Polissacarídeos

Polissacarídeos (Figura 03, p. 23) são biopolímeros muito versáteis que podem ser encontrados na natureza sob as mais diversas formas, exercendo diferentes funções. Muitas vezes, podem ser extraídos das raízes, dos tubérculos, dos caules e das sementes de produtos vegetais, nos quais atuam como reserva de energia, como é o caso do amido, da inulina e dos galactomananos. Outras vezes, podem ser encontrados, na estrutura celular de tecidos vegetais onde contribuem para a integridade estrutural e para a força mecânica, formando redes hidratadas tridimensionais, como é o caso das pectinas, em plantas marinhas (LAPASIN e PRICL, 1999).

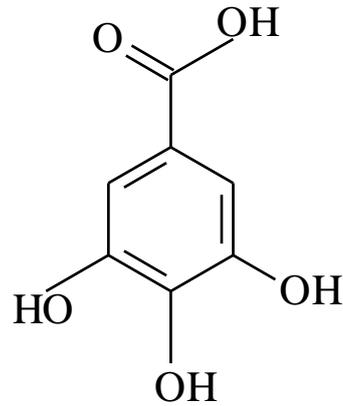
Figura 03: Estrutura de um polissacarídeo (amido).



Amilopectina.

3.3.2 Taninos

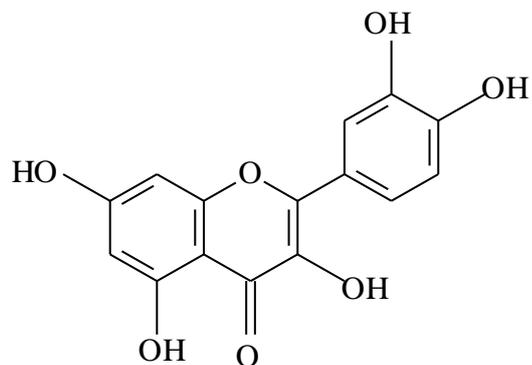
A palavra tanino (Figura 04, p. 24) é largamente usada, particularmente em literatura botânica, originalmente derivada do termo “tanante”, implicando que o material vegetal produza couro a partir de peles. Por serem fenólicos, os taninos são muito reativos quimicamente, formam ligações de hidrogênio, intra e intermoleculares. Um mol de taninos pode ligar-se a doze moles de proteínas, fundamentando-se nessa propriedade pode-se identificar taninos por teste de precipitação de gelatinas. Os métodos mais apropriados para determinação de taninos são os ensaios com precipitação de proteínas. Alguns ensaios colorimétricos são usados para quantificar grupos de taninos específicos, muito embora estes métodos sejam amplamente usados para analisar taninos de uma maneira geral, como no caso de taninos hidrolisáveis, eles detectam somente grupos galoi e hexaidroxidifenóis (HHDP). Apesar destas críticas, alguns autores afirmam que não há método ideal e reforçam que os métodos colorimétricos são os mais utilizados para análise de taninos (MONTEIRO, 2005).

Figura 04: Estrutura de um tanino.

Ácido gálico.

3.3.3 Flavonoides

Os flavonoides representam um dos grupos fenólicos mais importantes e diversificados entre os produtos de origem natural. Essa classe de metabólitos secundários é amplamente distribuída no reino vegetal (SIMÕES, 2004). São encontrados em frutas, vegetais, sementes, cascas de árvores, raízes, talos, flores e em seus produtos de preparação, tais como os chás e vinhos (NIJVELDT, 2001). Os compostos fenólicos ou polifenóis caracterizam-se por apresentar uma estrutura química com pelo menos um anel aromático ligado a um ou mais grupos hidroxila (Figura 05). De acordo com a estrutura química, os polifenóis podem ser classificados em: flavonoides, ácidos fenólicos, lignanas e estilbenos (CROZIER et al., 2009).

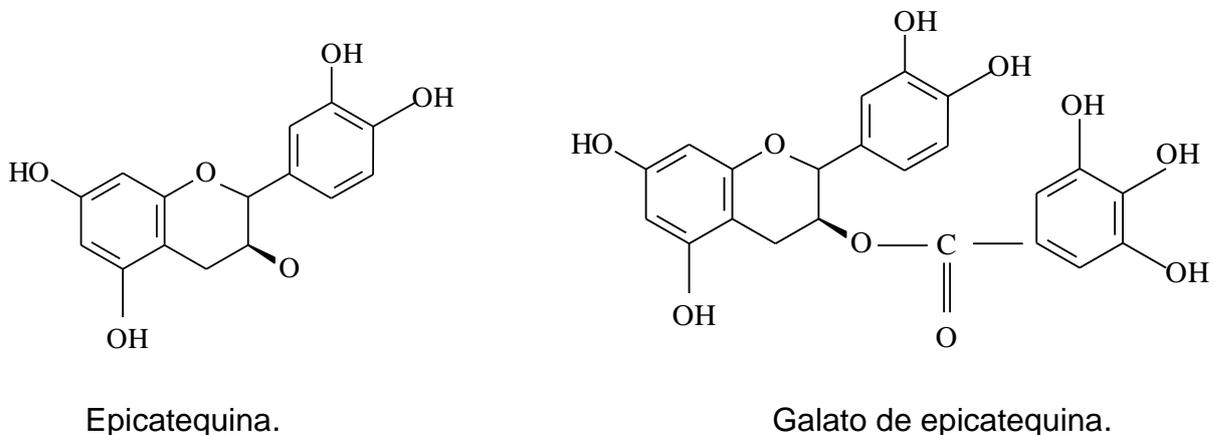
Figura 05: Estrutura de flavonoide.

Quercetina.

3.3.4 Catequinas

As catequinas (Figura 06) pertencem a um grupo de polifenóis. São compostos incolores e hidrossolúveis. Esses compostos, principais componentes bioativos do chá verde, exercem uma variedade de ações fisiológicas, tais como antioxidante, anti-inflamatórias, anti-hipertensivas, antidiabéticas, anti-mutagênicas, anti-bacterianas e anti-virais (BARBOSA e FERNANDES, 2014).

Figura 06: Estruturas de catequinas.

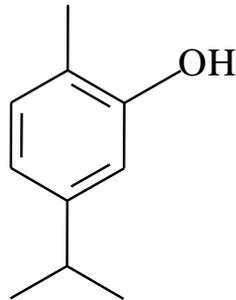


3.3.5 Sesquiterpenolactonas, esteroides e triterpenoides

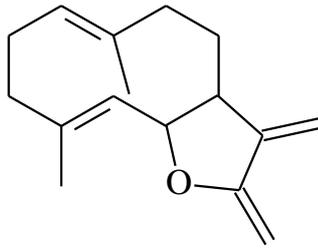
São subclasses dos terpenos, que formam uma diversificada classe de substâncias naturais (Figura 07, p. 26), ou metabólitos secundários de origem vegetal, especialmente das coníferas. Tradicionalmente, eram considerados como derivados do 2-metil-butadieno, mais conhecido como isopreno, uma molécula com 5 átomos de carbono ou unidade C5. A utilização da então chamada regra do isopreno permitiu classificá-los e estudá-los num primeiro momento, quando inúmeros terpenos foram isolados a partir de plantas superiores, muitos deles com valor comercial. Atualmente, sabe-se que terpenos com aroma agradável são extraídos de essências de plantas, outros são à base de medicamentos convencionais ou as plantas que os contém são fitoterápicos, alguns são precursores de vitaminas e outros de inseticidas. Estes compostos encontram-se em sementes, flores, folhas, raízes e madeira de plantas superiores assim como em

musgos, algas e líquens, enquanto que alguns são encontrados em mamíferos (DEWICK, 2002).

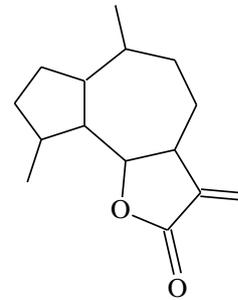
Figura 07: Estrutura de um terpeno e de sesquiterpenolactonas.



Carvacrol.



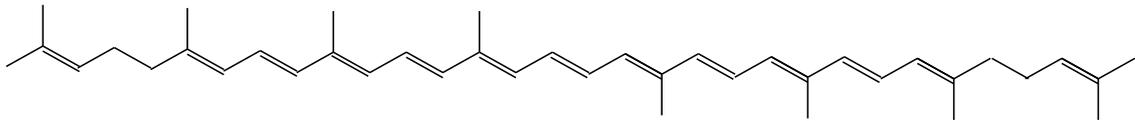
Germacranolidos.



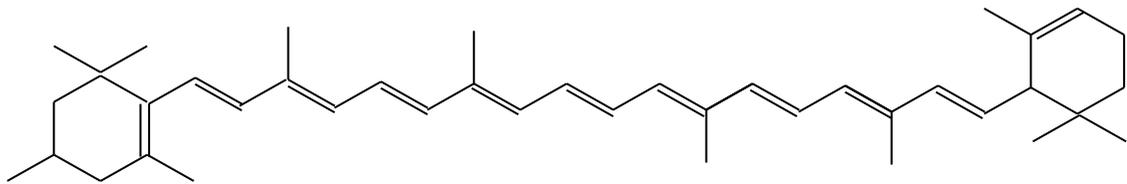
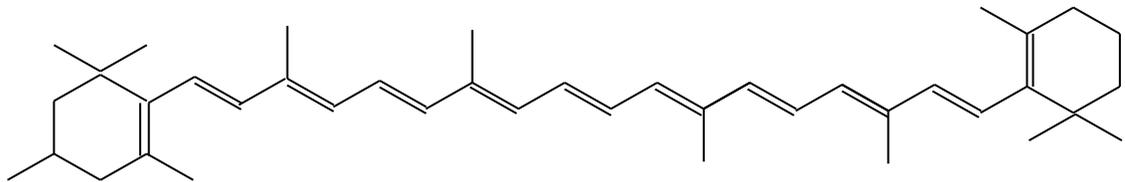
Guaianolidos.

3.3.6 Carotenoides

Carotenoides são pigmentos naturais que têm despertado o interesse de pesquisadores de diversas áreas há mais de um século. Extensamente distribuídos na natureza, estão presentes em plantas, animais e microrganismos. São substâncias com propriedades muito especiais. Dentre as funções conhecidas dos carotenoides estão a absorção de luz, atividade antioxidante, atividade anticancerígena e transporte de oxigênio. Alguns carotenoides possuem atividade pró-vitamina A (BIANCHINI e PENTEADO, 1998). Existem aproximadamente, 600 carotenoides encontrados na natureza, os quais são constituídos por dois grandes grupos, denominado: carotenos, que consistem em hidrocarbonetos puros; e xantofilas, hidrocarbonetos que possuem grupos funcionais oxigenados. Desses, 40 podem ser encontrados em alimentos como, frutas, legumes e verduras (GOMES, 2007). O beta-caroteno, o alfa-caroteno, o licopeno (Figura 08, p. 27), são alguns exemplos de carotenoides.

Figura 08: Estruturas de carotenoides.

Lycopeno.

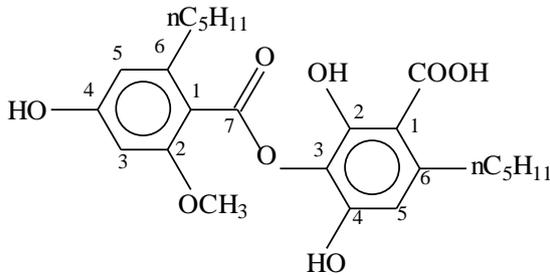
 α -caroteno. β -caroteno.

3.3.7 Depsídeos e depsidonas

Depsídeos (Figura 09, p. 28) podem ser formados por duas unidades fenólicas derivadas do orcinol, isto é, sem substituintes na posição 3. Esses compostos são formados pela esterificação da carboxila da posição 1 da primeira unidade com a hidroxila da posição 4' ou da posição 3' da segunda unidade. Os compostos resultantes são *para*-depsídeos e *meta*-depsídeos da série do orcinol, como o ácido lecanórico e o ácido criptoclorofeico. Já os tridepsídeos, são resultantes da esterificação de três unidades fenólicas, como no ácido girofórico. Além dos depsídeos derivados do orcinol (ácido orselínico), ocorrem outros derivados do β -orcinol (ácido β -metil-orselínico), como por exemplo atranorina, os ácidos difractáico, obtusático e baeomicésico. Um outro grupo de compostos estruturalmente relacionados aos depsídeos são as depsidonas. Além de ligação éster presente nos depsídeos, as depsidonas (Figura 10, p. 28) apresentam também um heterociclo adicional resultante de uma ligação éter, geralmente entre as posições 2 e 5' como no ácido fisódico. No ácido variolárico a ligação éter está entre

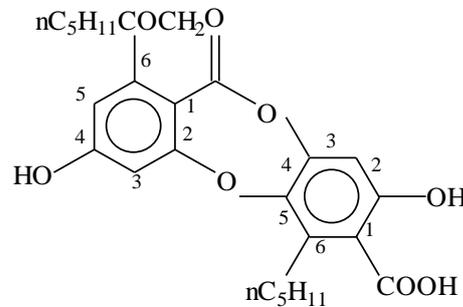
as posições 2 e 3', sendo este o único caso, até então, conhecido (HONDA e VILEGAS, 1998).

Figura 09: Estrutura de depsídeo.



Ácido criptoclorofeico.

Figura 10: Estrutura de depsidona.

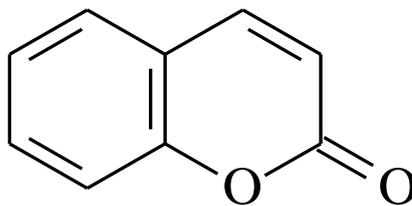


Ácido fisódico.

3.3.8 Cumarina

As cumarinas (Figura 11) apresentam espectro ultravioleta característico, devido à natureza e posição dos substituintes químicos. É definida como marcador químico para controle de qualidade de formulações a base de guaco conforme a lista de registro simplificado de fitoterápicos da ANVISA, resolução RE nº 89, de 16 de março de 2004 (SILVA et al., 2008).

Figura 11: Estrutura de uma cumarina.



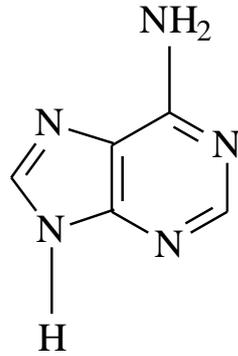
Benzo - α - pirona.

3.3.9 Purinas

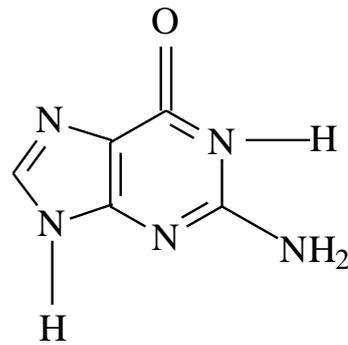
Purinas são bases nitrogenadas que compõem o nucleotídeo adenina (A) e guanina (G) (Figura 12, p. 29) são purinas que, por ponte de hidrogênio, se ligam às pirimidinas timina (T) e citosina (C), respectivamente. Geralmente são pouco solúveis em água de pH neutro e bastante abundantes na natureza, uma vez que

metade das bases do DNA são purinas. A principal utilização das purinas é a síntese do DNA, porém, elas também são componentes de várias outras moléculas indispensáveis ao organismo como o ATP (CARDOSO, 2015).

Figura 12: Estruturas de purinas.



Adenina.

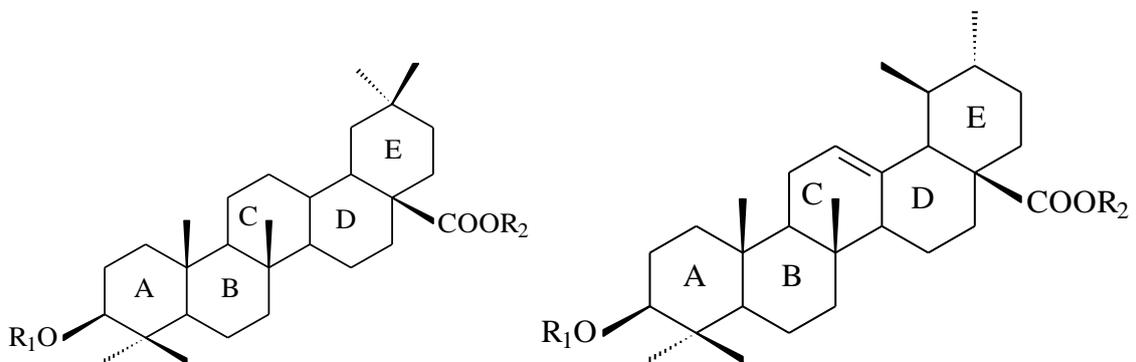


Guanina.

3.3.10 Saponinas

Saponinas são glicosídeos de esteroides ou de terpenos policíclicos (Figura 13, p. 29 e 30). Em meio aquoso formam espuma de cor branca ou amarela. As saponinas são produzidas por determinados vegetais, apresentam sabor amargo e poder detergente. Saponinas têm sido associadas às atividades hemolítica, antiviral, antiinflamatória e anticancerígena (SIMÕES, 2004).

Figura 13: Estruturas de saponinas.

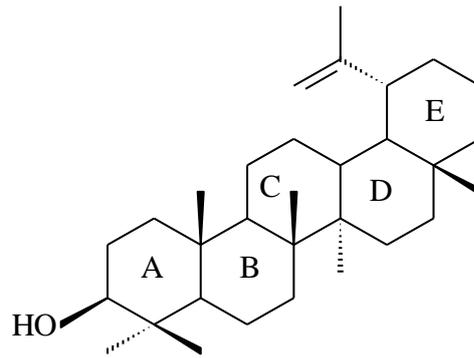


Estrutura tipo β -amirina:

ácido oleanólico $R_1=R_2 = H$

Estrutura tipo α -amirina:

ácido ursólico $R_1=R_2 = H$

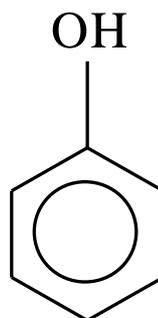


Lupeol.

3.3.11 Fenóis

Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples (Figura 14), ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (NACZK, 2004). A atividade antioxidante de compostos fenólicos deve-se principalmente às suas propriedades redutoras e estrutura química. Estas características desempenham um papel importante na neutralização ou seqüestro de radicais livres e quelação de metais de transição, agindo tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. Os intermediários formados pela ação de antioxidantes fenólicos são relativamente estáveis, devido à ressonância do anel aromático presente na estrutura destas substâncias (CHUN, 2005).

Figura 14: Estrutura de fenol.

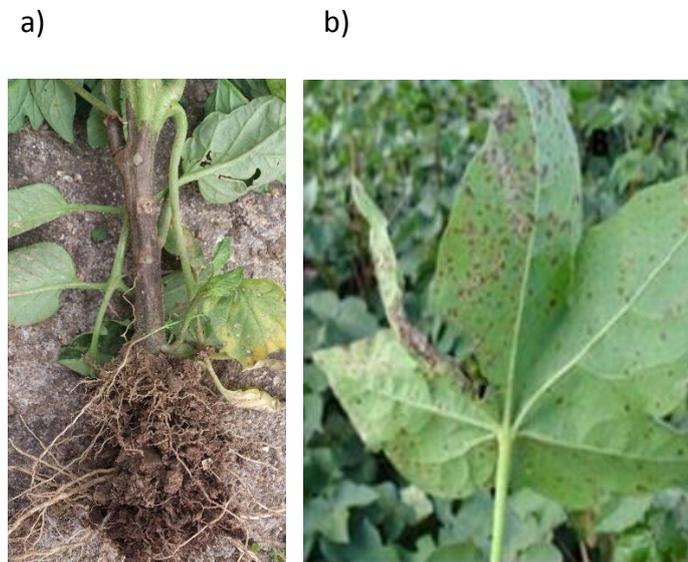


Hidroxibenzeno (ácido fênico).

3.4 FUNGOS FITOPATOGÊNICOS

Os fungos fitopatogênicos são identificados, em sua maioria, pelos sintomas que provocam e pelos sinais presentes no hospedeiro, que são facilmente observados em campo, tais como manchas foliares, podridões, ramos secos, exsudações (Figura 15) entre outros (BATISTA et al., 2007).

Figura 15: (a) -Tomateiro atacado pelo fungo *Fusarium sp.* e (b) - algodoeiro atacado pelo fungo *Colletotrichum gossypii*.



Fonte: http://fitopatologia1.blogspot.com.br/2010/10/revisao-de-literatura-das-doencas-da_6162.html

As doenças de plantas ainda provocam enormes prejuízos financeiros para os produtores e para o país. A eficiência produtiva, incluindo o controle de doenças, é necessária devido ao constante aumento da população nas cidades e a diminuição das áreas agricultáveis. Do passado até os dias atuais, o homem aprendeu que o controle das doenças deve ser substituído por manejo integrado de doenças, ou seja, conviver com as doenças em níveis aceitáveis de danos e, ainda, preservar o meio ambiente (BERGAMIN FILHO e KIMATI, 1995).

Dentre as doenças de plantas, as fúngicas são as que causam maiores perdas no Brasil. Neste contexto, sobressaem as grandes perdas de produção causadas pelos fungos *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides*, causador da

ramulose do algodão, *Sclerotinia sclerotiorum*, causador da podridão branca da haste da soja, *Fusarium solani f. sp. Glycines* causador da podridão vermelha da raiz ou síndrome da morte súbita da soja, *Macrophomina phaseolina* causador da podridão de carvão da soja, *Colletotrichum gloeosporioides* causador da antracnose de estilosantes), *Pyricularia grisea* e *Magnaporthe grisea*, causadores de brunose do trigo e do arroz (ALVES et al., 2008).

Os fungos fitopatogênicos crescem e produzem várias estruturas na superfície do hospedeiro. Essas estruturas incluem micélio, esclerócios, esporóforos, corpos de frutificação e esporos, considerados sinais. Os sinais são distintos dos sintomas que se refere apenas à aparência da planta, enquanto os sintomas consistem de lesões necróticas ou cloróticas em folhas, frutos e caule, reduzindo o crescimento da planta (AGRIOS, 2005).

A colonização dos fungos fitopatogênicos é representada pela retirada de nutrientes do hospedeiro pelo patógeno, que pode ser biotrófico, quando as fontes de nutrientes são tecidos vivos do hospedeiro, necrotrófico, quando as fontes de nutrientes são tecidos mortos e hemibiotrófico, que inicia a infecção como biotrófico e coloniza o hospedeiro como necrotrófico. Todos os vírus, viróides, fitoplasmas, fungos causadores de ferrugens, carvões, oídios e míldios, além de algumas bactérias são patógenos biotróficos. Os biotróficos e hemibiotróficos podem apresentar distribuição sistêmica, através dos vasos do floema, principalmente vírus, viróides, fitoplasmas e espiroplasmas ou do xilema, exemplos: *Fusarium oxysporum*, *Verticillium albo-atrum*, *Ralstonia solanacearum*. Alguns biotróficos apresentam distribuição localizada nas plantas, restrita às células adjacentes ao ponto de infecção como, por exemplo, as ferrugens (AMORIM et al. 2011).

O manejo integrado dessas doenças consiste na adoção de um conjunto de medidas e princípios voltados para o patógeno (fungos), hospedeiro (plantas) e o ambiente. Dessa forma, procura-se reduzir ou eliminar completamente o inóculo inicial (estruturas) do patógeno, que inicia o processo doença; reduzir a taxa de progresso da doença com o intuito de diminuir o número de plantas doentes no tempo e, por fim, manipular o período de tempo em que a cultura permanece exposta ao patógeno, em condições de campo (ZAMBOLIN et al., 2004).

3.5 *Colletotrichum gossypii*.

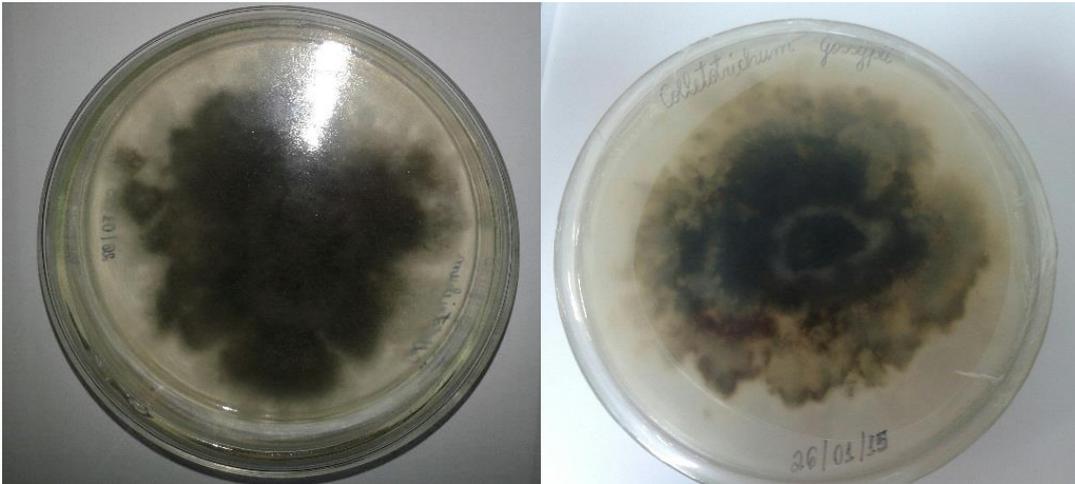
O gênero *Colletotrichum* é um membro da ordem Melaconiales, da classe *Coelomycetes* (HAWKSWORTH, 1983), com ampla distribuição mundial e uma variedade de hospedeiros, sendo mais importante nos trópicos. Os fungos do gênero *Colletotrichum* apresentam as espécies que estão entre os mais bem sucedidos fungos patógenos de plantas, causando significativos prejuízos econômicos às plantações das regiões tropicais, subtropicais e temperadas (BAILEY e JEGER, 1992).

Nas espécies de *Colletotrichum* são encontradas formas saprófitas e patogênicas, sendo estas últimas, responsáveis por doenças economicamente importantes, comumente denominadas de antracnoses, que ocorrem em extensa gama de hospedeiros. As plantas estão sujeitas a essa doença em todas as fases de desenvolvimento, e o patógeno pode ser disseminado de uma planta para outra por meio de vários agentes do ambiente aéreo. As sementes infectadas também podem disseminar o patógeno de uma área para outra e, quando semeadas, poderão transmiti-lo para plântulas, induzindo sintomas de damping-off de pré e pós emergência.

Para invadir o tecido hospedeiro, as espécies de *Colletotrichum* utilizam estratégias que variam de hemibiotróficos intracelular a necrotróficos subcuticular, desenvolvendo estruturas especializadas para penetrar no hospedeiro, como por exemplo, os apressórios. Com o processo de colonização do patógeno, nos tecidos da planta afetada, surgem os sintomas de antracnose, visíveis em folhas, inflorescências e frutos, sendo a doença mais severa em regiões tropicais e subtropicais. (MENEZES, 2006).

O *Colletotrichum gossypii* (Figura 16, p. 34) pode viver saprofiticamente em restos de cultura por um período de vários meses. Entretanto, são as sementes contaminadas que constituem a principal fonte de inóculo. O fungo, através das lesões nos capulhos, pode atingir o embrião da semente, onde permanece viável como micélio dormente por um período de até 3 anos, sob condições normais de armazenamento (CIA, E.;SALGADO et al., 2005).

Figura 16: *Colletotrichum gossypii*.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

A ramulose do algodoeiro (*Gossypium hirsutum* L.) é causada por *Colletotrichum gossypii* South var. *cephalosporioides* A.S. Costa e sua ocorrência é limitada ao Brasil. O patógeno infecta as folhas, os pecíolos e o colmo, e também provoca nanismo e superbrotamento dos ramos, prejudicando assim, a formação de maçãs, e conseqüentemente, o rendimento do algodão (FREIRE et al., 1999; FUZATTO et al., 1999; MEHTA et al., 2001). O patógeno é transmitido pela semente e também pelos restos culturais. Atualmente, a doença está sendo controlada através de três a quatro aplicações de fungicidas, porém a ramulose pode também ser controlada através de resistência varietal (MEHTA et al., 2005).

O método mais adotado pelos cotonicultores para controle dessas doenças é o controle químico, onde são realizadas várias aplicações de fungicidas para controle das mesmas. A utilização de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos apresenta grande eficiência, levando-se a considerar esta prática promissora dentre os métodos de controle alternativo utilizados (RODRIGUES et al. 2006).

3.6 – FUNGICIDAS

Os agrotóxicos da classe dos fungicidas são substâncias químicas, de origem natural ou sintética que, aplicadas às plantas, protegem-nas da penetração e/ou do posterior desenvolvimento de fungos patogênicos em seus tecidos ao atrasar, inibir ou eliminar o seu crescimento. O controle químico de doenças fúngicas, apesar de ser eficiente, é um processo oneroso, que pode favorecer o surgimento de patógenos resistentes e de pragas secundárias (PUNJA e UKHEDE, 2003). Além da baixa eficiência e os danos causados por essas moléculas, os consumidores estão exigindo, cada vez mais, produtos ecologicamente limpos. Em decorrência dos danos que os pesticidas vem causando ao homem e à natureza torna-se imprescindível buscar medidas alternativas de controle de pragas e doenças, com o uso de produtos naturais, eficientes e de baixo impacto ambiental (SILVA et al., 2005).

Figura 17: Manejo de fungicida.



Fonte: <http://www.primeirahora.com.br/noticia69164especialista-fala-sobre-manejo-de-fungicidas-em-soja-em-ano-de-muito-inoculo>.

Nos últimos anos, especialmente após a Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente e Desenvolvimento (ECO-92), e recentemente, a Rio +20 em 2012, autoridades e cidadãos comuns tem se mostrando de forma crescente, mais preocupados com problemas associados à conservação e qualidade do meio

ambiente. Essa preocupação tem resultado na busca pelo setor agropecuário de tecnologias para a implantação de sistemas de produção de enfoque ecológico, rentáveis e socialmente justos. Como resposta a essa demanda, a pesquisa científica tem avançado no desenvolvimento de soluções tecnológicas para uma agricultura sustentável. A agricultura sustentável, produtiva e ambientalmente equilibrada, apoia-se em práticas agropecuárias que promovem a agrobiodiversidade e os processos biológicos naturais, que se baseiam no baixo uso de insumos externos (FERERES et al., 2011).

Diante dessa perspectiva, o uso de fungicidas naturais pode representar uma boa alternativa no controle de fitopatógenos. A utilização de fungicidas naturais a base de óleos essenciais tem sido empregado com bastante eficácia (GADELHA, 2002). Existem relatos na literatura da ação do óleo essencial de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Aroeira vermelha) como controle alternativo de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Lasiodyplodia theobromae*, fungos fitopatogênicos de pós-colheita (SANTOS et al., 2014). O extrato de nim (*Azadirachta indica*) possui ações fungicidas e inseticidas reconhecidas, além de baixa toxicidade a vertebrados (MARTINEZ, 2002). Pesquisas realizadas mostraram que os óleos essenciais de *Cymbopogon citratus* (Capim limão) e *Eucalyptus citriodora* (eucalipto) foram eficientes no controle da *F. solani*, e é uma alternativa sustentável para o controle desse fungo (Abreu, 2006). Nesse contexto, justifica-se a realização dos bioensaios fungicidas a partir de extratos de fontes naturais.

4 – PARTE EXPERIMENTAL

4.1 COLETA DO MATERIAL BOTÂNICO.

Folhas jovens e maduras de *Annona muricata* L. (Figura 18) foram coletadas no viveiro Castanheira (Figura 19) localizado na BR 222, Morada Nova em Marabá-PA e devidamente identificadas por botânicos da Fundação Casa da Cultura de Marabá – Marabá-PA, em cujo herbário encontra-se depositada uma exsicata sob o seguinte número de registro: 6172.

Figura 18: Árvore de graviola
(*Annona muricata* L.).



Figura 19: Viveiro Castanheira.



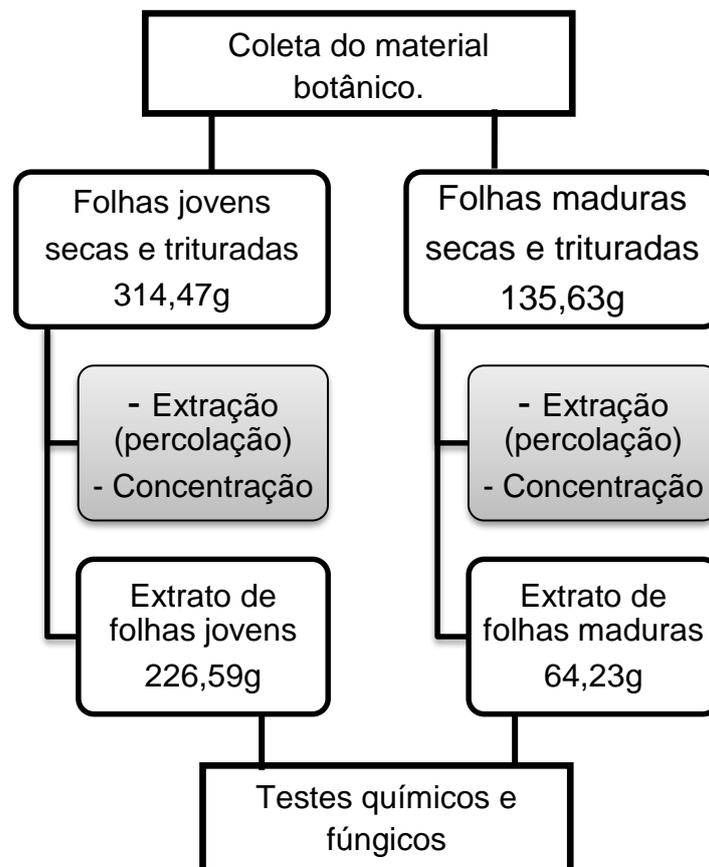
Fonte: Araújo e Campos, 2014.

4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ORGÂNICOS.

As folhas de *Annona muricata* L. foram higienizadas, cortadas com o auxílio de uma tesoura e submetidas à secagem em temperatura ambiente por um período de uma semana. Após esse período o material botânico foi submetido à temperatura de 45 °C em estufa, por um período de quatro horas. Após secagem o material foi

triturado em liquidificador doméstico e pesado em balança analítica. Para a obtenção dos extratos as folhas trituradas foram depositadas em frasco extrator usando a técnica de percolação tendo como solvente o Metanol. Os extratos obtidos foram concentrados em um evaporador rotativo. A metodologia de obtenção dos extratos está resumida no fluxograma 01.

Fluxograma 01 - Obtenção dos extratos das folhas de *Annona muricata* L.



4.3 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA.

Os extratos foram submetidos à investigação qualitativa dos constituintes químicos por classes metabólicas, tais como: polissacarídeos, fenóis e taninos, flavonoides, alcaloides, catequinas, sesquiterpenolactonas e outras lactonas, carotenoides, esteroides e triterpenoides, depsídeos e

depsidonas, cumarina, saponinas e purinas seguindo a metodologia proposta por Barbosa (2004).

Para a realização destes testes foram utilizados os solventes: água destilada, metanol, clorofórmio e éter etílico, de acordo com a polaridade de cada classe a ser analisada, como segue:

➤ Teste para polissacarídeos

Foram dissolvidos 3 miligramas de cada extrato bruto (folhas jovens e maduras de *A. muricata* L.) em 5 mL de água destilada. Foi feita uma filtração simples. Transferiu-se a solução para tubos de ensaio e acrescentou-se duas gotas de reagente Lugol (solução com 5 g de iodeto de potássio e 2,5 g de iodo, aferir em 50 mL com água destilada). O aparecimento de coloração azulada na solução indica a presença de polissacarídeos no extrato.

➤ Teste para fenóis e taninos

Foi dissolvido 1 miligrama de extrato bruto (folhas jovens e maduras de *A. muricata* L.) em 5 mL de água destilada. Foi feita uma filtração simples. Transferiu-se para tubos de ensaio e adicionou-se uma gota da solução de cloreto férrico (FeCl_3 a 1%). Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativo de reação positiva. O aparecimento de uma coloração entre o azul e o vermelho é indicativo da presença de fenóis e uma coloração azulada ou verde ou formação de precipitado indica a presença de taninos.

➤ Teste para Flavonoides.

Foi dissolvido 1 miligrama de extrato bruto (folhas jovens e maduras de *A. muricata* L.) em 10 mL de Metanol. Foi feita uma filtração simples. Transferiu-se para tubos de ensaio. Adicionou-se cinco gotas de ácido clorídrico concentrado (HCl). Em seguida, acrescentou-se 1 cm de fita de magnésio ao tubo de ensaio. O aparecimento de uma coloração rósea na solução indicaria a presença de flavonoides.

➤ Teste para Catequinas

Foi dissolvido 1 miligrama de extrato bruto (folhas jovens e maduras de *A. muricata L.*) em 3 mL de Metanol. Filtrou-se. Adicionou-se 1 mL de solução de vanilina 1% e 1 mL de ácido clorídrico concentrado (HCl). O surgimento de uma coloração vermelha intensa indica a presença de catequinas.

➤ Teste para Sesquiterpenolactonas e outras lactonas

Foi dissolvido 1 miligrama de extrato bruto (folhas jovens e maduras de *A. muricata L.*) em 3 mL de metanol. Foi feita uma filtração simples. Transferiu-se para tubos de ensaio. Adicionou-se doze gotas de solução alcoólica de cloridrato de hidroxilamina a 10% e duas gotas de solução metanólica de hidróxido de potássio a 10% (KOH). A solução resultante foi aquecida em banho-maria por dois minutos. Após resfriar, acidificou-se uma gota de solução de ácido clorídrico 1% e adicionou-se uma gota de cloreto férrico 1% (m/v). O aparecimento de uma coloração violeta na solução indica a presença de sesquiterpelactonas e outras lactonas.

➤ Teste para Carotenoides

Foi dissolvido 1 miligrama de extrato bruto (folhas jovens e maduras de *A. muricata L.*) em 3 mL de Clorofórmio. Foi feita um filtração simples. Transferiu-se para tubos de ensaio e adicionou-se três gotas de ácido trifluoroacético. O aparecimento de uma coloração azul na solução indica a presença de carotenoides.

➤ Teste para Esteroides e triterpenoides

Foram dissolvidos 1,5 miligramas de extrato bruto (folhas jovens e maduras de *A. muricata L.*) em 10 mL de Clorofórmio. Foi feita uma filtração simples. Transferiu-se para tubos de ensaio e adicionou-se 1 mL de anidrido acético seguido de agitação. Pelas paredes do tubo, adicionou-se três gotas de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄). Agitou-se novamente. A observação de um rápido desenvolvimento de cores, que vão do azul ao verde persistente na solução indica a presença de esteroides e triterpenoides.

➤ Teste para Depsídios e depsidonas

Foi dissolvido 1 miligrama de extrato bruto (folhas jovens e maduras de *A. muricata L.*) em 5 mL de éter etílico. Foi feita uma filtração simples. Transferiu-se

para tubos de ensaio. Em seguida o tubo foi levado ao banho-maria para evaporar todo o éter. Ao término da evaporação do éter foram acrescentados 3 mL de metanol e agitou-se. Por fim adicionaram-se três gotas de cloreto férrico 1% (FeCl_3). O aparecimento de coloração verde, azul ou cinza na solução indica a presença de depsídeos e depsídonas nos extratos.

➤ Teste para Cumarina.

Foi dissolvido 1 miligrama de extrato bruto (folhas jovens e maduras de *A. muricata* L.) em 5 mL de éter etílico. Foi feita uma filtração simples. Transferiu-se para tubos de ensaio. Em seguida o tubo foi levado ao banho-maria com o objetivo de obter uma solução de aproximadamente 0,5 mL, portanto, mais concentrado. Em seguida, foram aplicadas gotas da solução etérea em uma cromatoplaca (placa de alumínio com sílica). A cromatoplaca foi imersa em uma cuba de vidro contendo fase móvel constituída por uma mistura de solventes (hexano: diclorometano 7:3). A análise da cromatoplaca foi feita por exposição á luz ultravioleta com $\lambda = 365\text{nm}$ e o aparecimento de uma mancha azulada na placa, acima da mancha do extrato, indica a presença de cumarina.

➤ Teste para saponinas

Foi dissolvido 1 miligrama de cada extrato bruto (folhas jovens e maduras de *A. muricata* L.) em 5 mL de água destilada. Em seguida, foi diluído para 15 mL de água destilada e agitou-se vigorosamente durante 2 minutos em tubo fechado. Deixou-se o tubo em repouso por 30 minutos, para verificação de formação de espuma.

➤ Teste para Purinas.

Foi transferido 1 miligrama de extrato bruto (Folhas jovens e maduras de *A. muricata* L.) para uma cápsula de porcelana, adicionou-se três gotas de solução de ácido clorídrico 6% (HCl) e duas gotas de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 a 30%). A cápsula contendo o extrato foi levada ao banho-maria até a formação de um resíduo de cor vermelha. Em seguida, adicionaram-se três gotas da solução de hidróxido de amônio 6N (NH_4OH), e o surgimento de uma coloração violeta indica uma reação positiva para purinas.

4.4 ENSAIOS FUNGICIDAS.

Para avaliação do potencial fungicida foram utilizados os extratos de folhas jovens e maduras de *Annona muricata* L. diluídos em uma solução de óleo mineral e DMSO (na proporção 1:1). Foram incorporados ao meio de cultura BDA 2 mL de cada solução para um volume final de 50 mL com concentrações m/v de 1%, 0,5% e 0,2%. As soluções dos extratos foram distribuídas em placas de Petri descartáveis de 5,5 cm de diâmetro. Os ensaios foram realizados em quadruplicata.

Foram transferidos para o centro das placas de Petri discos de micélio do fungo fitopatogênico *Colletotrichum gossypii*, contendo o meio com as concentrações para cada extrato de folhas jovens e maduras. As placas foram incubadas em câmara de crescimento com temperatura controlada para 27 ± 1 °C, em ausência de luz. A cada 2 dias, foram medidos os diâmetro de crescimento do micélio na presença dos extratos por um período de 09 dias. O potencial fungicida dos extratos foram avaliados com base no percentual inibitório do desenvolvimento micelial do fitopatógeno. Foram utilizados como controle meio de cultura BDA e meio BDA acrescido de óleo mineral e DMSO (na proporção 1:1).

Figura 20: Extratos de folhas de *A. muricata* L.; **Figura 21:** Placas inoculadas.

a) Folhas jovens; b) Folhas maduras.



5 – RESULTADOS E DISCUSSÕES.

5.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS ORGÂNICOS.

A partir das folhas da *Annona muricata L.*, foram obtidos 226,59 g de extrato de folhas jovens e 64,23 g de extrato de folhas maduras correspondendo a rendimentos de 72% e 47,3%, respectivamente. Portanto, o rendimento foi satisfatório visto que houve um aproveitamento do material orgânico suficiente para a realização dos testes de caracterização e os ensaios fungicidas.

5.2 CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DAS FOLHAS DE *Annona muricata L.* SEGUNDO BARBOSA 2004.

Após a obtenção dos extratos, os mesmos foram submetidos à análise fitoquímica, com o objetivo de verificar quais classes de produtos naturais estão contidos em sua composição observando Barbosa, 2004. Para o extrato obtido a partir das folhas jovens foi verificado a presença das classes dos fenóis, flavonoides, catequinas, sesquiterpenolactonas e outras lactonas, carotenoides, esteroides e triterpenoides, depsídeos e depsidonas e saponinas. Para o extrato obtido a partir das folhas maduras foi verificado a presença das classes dos taninos, flavonoides, catequinas, sesquiterpenolactonas e outras lactonas, carotenoides, depsídeos e depsidonas e saponinas, conforme discussão e registro fotográfico abaixo.

a) Polissacarídeos: A adição de 2 gotas de reagente lugol às soluções dos extratos das folhas jovens e maduras levou ao não aparecimento de coloração azulada nas soluções indicando resultado negativo para polissacarídeos em ambas as soluções dos extratos (Figura 22, p. 44).

Figura 22: a) Resultado negativo para polissacarídeos no extrato de folhas jovens;
b) Resultado negativo para polissacarídeos e no extrato de folhas maduras.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

b) Fenóis: A adição de 1 gota de cloreto férrico (FeCl_3 a 1%) à solução do extrato das folhas jovens levou ao aparecimento de coloração entre o azul e o vermelho indicando teste positivo para fenóis (Figura 23, a). O mesmo procedimento foi executado frente ao extrato das folhas maduras, porém nenhuma mudança de coloração foi observada indicando, portanto, resultado negativo (Figura 23, b).

Figura 23: a) Resultado positivo para fenóis em folhas jovens; b) Resultado negativo para fenóis em folhas maduras.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

c) Taninos: A adição de cloreto férrico (FeCl_3 a 1%) à solução do extrato das folhas maduras e o aparecimento de uma coloração azulada ou verde ou formação de precipitado indicou teste positivo para taninos (Figura 24, a). Ao testar o extrato das folhas jovens observou-se teste negativo (Figura 24, b).

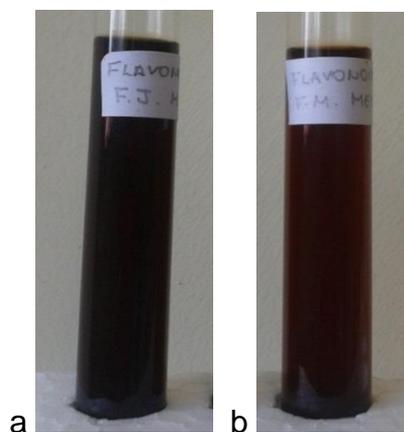
Figura 24: a) Resultado positivo para taninos em folhas maduras; b) Resultado negativo para taninos em folhas jovens.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

d) Flavonoides: A adição de ácido clorídrico e fita de magnésio aos extratos de folhas jovens e maduras levou ao aparecimento de coloração rósea indicando teste positivo para flavonoides em ambas as soluções dos extratos (Figura 25).

Figura 25: a) Resultado positivo para flavonoides no extrato de folhas jovens; b) Resultado positivo para flavonoides no extrato de folhas maduras.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

e) Catequinas: A adição de 1 mL de solução de vanilina 1% e 1 mL de ácido clorídrico concentrado (HCl) à solução de extrato de folhas jovens e à solução de extrato de folhas maduras levou ao surgimento de uma coloração vermelha intensa indicando a presença de catequinas em ambas às soluções dos extratos (Figura 26).

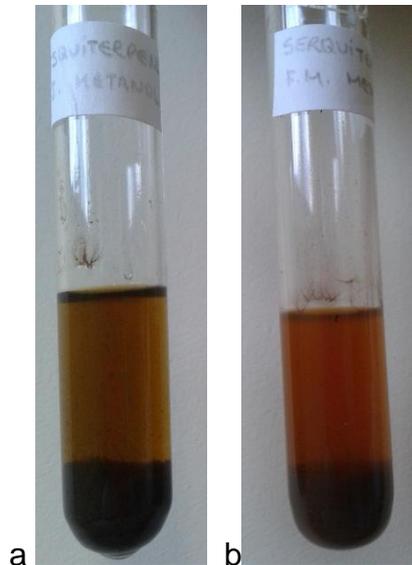
Figura 26: a) Resultado positivo para catequinas no extrato de folhas jovens; b) Resultado positivo para catequinas no extrato de folhas maduras.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

f) Sesquiterpenolactonas e outras lactonas: A adição de 1 gota de solução de ácido clorídrico 1% e 1 gota de cloreto férrico 1% (m/v) à solução de extrato de folhas jovens e à solução de extrato de folhas maduras levou ao aparecimento de uma coloração violeta na solução indicando a presença de sesquiterpelactonas e outras lactonas em ambas as soluções dos extratos (Figura 27, p. 47).

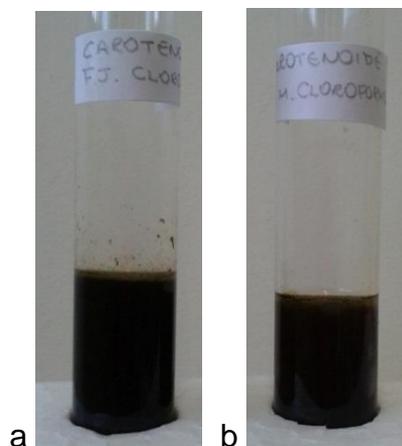
Figura 27: a) Resultado positivo para sesquiterpelactonas e outras lactonas no extrato de folhas jovens; b) Resultado positivo para sesquiterpelactonas e outras lactonas e no extrato de folhas maduras.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

g) Carotenoides: A adição de 3 gotas de ácido trifluoroacético à solução do extrato de folhas jovens e à solução do extrato de folhas amarelas levou ao aparecimento de uma coloração azul na solução indicando teste positivo para carotenoides em ambas as soluções dos extratos (Figura 28).

Figura 28: a) Resultado positivo para carotenoides no extrato de folhas jovens; b) Resultado positivo para carotenoides e no extrato de folhas maduras.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

h) Esteroides e Triterpenoides: A adição 1 mL de anidrido acético e 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4) à solução do extrato de folhas jovens levou ao surgimento de um rápido desenvolvimento de cores que variaram do azul ao verde persistente indicando teste positivo (Figura 29, a). O mesmo procedimento foi realizado na solução do extrato de folhas maduras, porém, nenhum desenvolvimento de cores que vão do azul ao verde persistente foi encontrado indicando teste negativo para esteroides e triterpenoides na solução do extrato de folhas maduras (Figura 29, b).

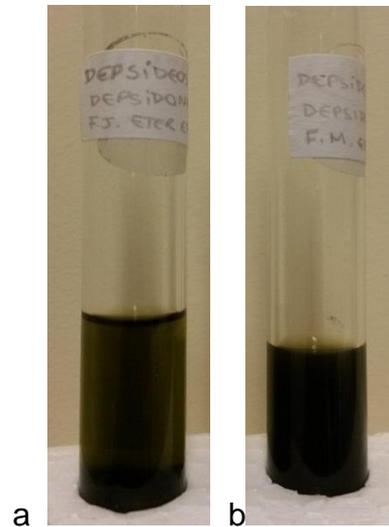
Figura 29: a) Resultado positivo para esteroides e triterpenoides no extrato de folhas jovens; b) Resultado negativo para esteroides e triterpenoides no extrato de folhas maduras.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

i) Depsídeos e depsidonas: A adição de 3 mL de metanol e 3 gotas de cloreto férrico 1% ($FeCl_3$) à solução do extrato de folhas jovens e a solução de folhas maduras levou ao aparecimento de uma coloração verde intenso indicando teste positivo para depsídios e depsidonas em ambas as soluções (Figura 30, p. 49).

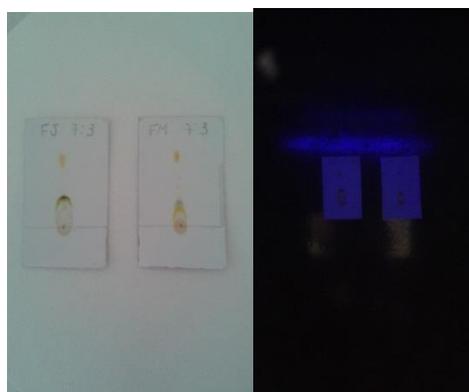
Figura 30: a) Resultado positivo para depsídeos e depsídonas na solução do extrato de folhas jovens; b) Resultado positivo para depsídeos e depsídonas na solução e na solução do extrato de folhas maduras.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

j) Cumarina: A análise feita através da exposição da cromatoplaça à luz ultravioleta com $\lambda = 365\text{nm}$ não apresentou mancha azulada na placa, acima da mancha do extrato, portanto, indicando resultado negativo para cumarina frente ao extrato de folhas jovens e no extrato de folhas maduras (Figura 31).

Figura 31: Resultado negativo para cumarina no extrato de folhas jovens e no extrato de folhas maduras.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

k) Saponinas: Após 30 minutos de repouso, os tubos contendo as soluções dos extratos de folhas jovens e maduras foram observados e o surgimento de espuma nas soluções indicaram teste positivo para saponinas (Figura 32).

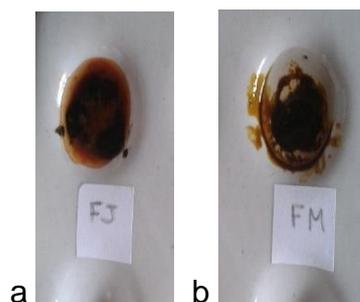
Figura 32: a) Resultado positivo para saponinas no extrato de folhas jovens; b) Resultado positivo para saponinas no extrato de folhas maduras.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

l) Purinas: A adição de 3 gotas da solução de hidróxido de amônio 6N (NH_4OH) às soluções aquecidas dos extratos de folhas jovens e maduras contendo 3 gotas de solução de ácido clorídrico 6% (HCl) e 3 gotas de peróxido de hidrogênio (H_2O_2 a 30%) não levou ao surgimento de uma coloração violeta, portanto, indicou uma reação negativa para purinas (Figura 33).

Figura 33: a) Resultado negativo para purinas no extrato de folhas jovens; b) Resultado negativo para no extrato de folhas maduras.



Fonte: Araújo e Campos, 2015.

A partir dos testes realizados foi verificado que a espécie selecionada para a realização do referido trabalho está em conformidade com os registros da literatura (LUNA, 2006), ou seja, *Annona muricata L.* pertencente a família Annonaceae é muito rica na biodiversidade de substâncias como ácidos fenólicos, taninos, flavonoides, lactonas, catequinas, saponinas, entre outros, o que lhe atribui uso na medicina popular e nos estudos químicos e farmacológicos.

5.3 POTENCIAL FUNGICIDA.

A partir dos resultados obtidos nos testes fungicida foi constatado que os extratos de *Annona muricata L.* não apresentaram efeito inibitório frente ao fitopatógeno *Colletotrichum gossypii*, o que pode ser comprovado ao comparar os dados obtidos para ambos os extratos, folhas jovens e maduras, nas concentrações de 0,2%, 0,5%, e 1% registrados nos gráficos 01 e 02. Além disso, os solventes utilizados no preparo das soluções apresentaram atividade inibitória frente ao fitopatógeno testado, uma vez que, o controle DMSO, óleo mineral e meio de cultura BDA apresentou desenvolvimento micelial menor que aquele registrado para o controle constituído apenas de meio de cultura BDA.

O crescimento fúngico em meio de cultura obtido a partir do extrato de folhas de *Annona muricata L.* representado no gráfico 01 relaciona o diâmetro micelial em cm versus dias de cultivo.

Gráfico 01: Desenvolvimento micelial do fungo *Colletotrichum gossypii* frente aos extratos de *Annona muricata L.*, folhas jovens, nas concentrações de 0,2%, 0,5% e 1%.

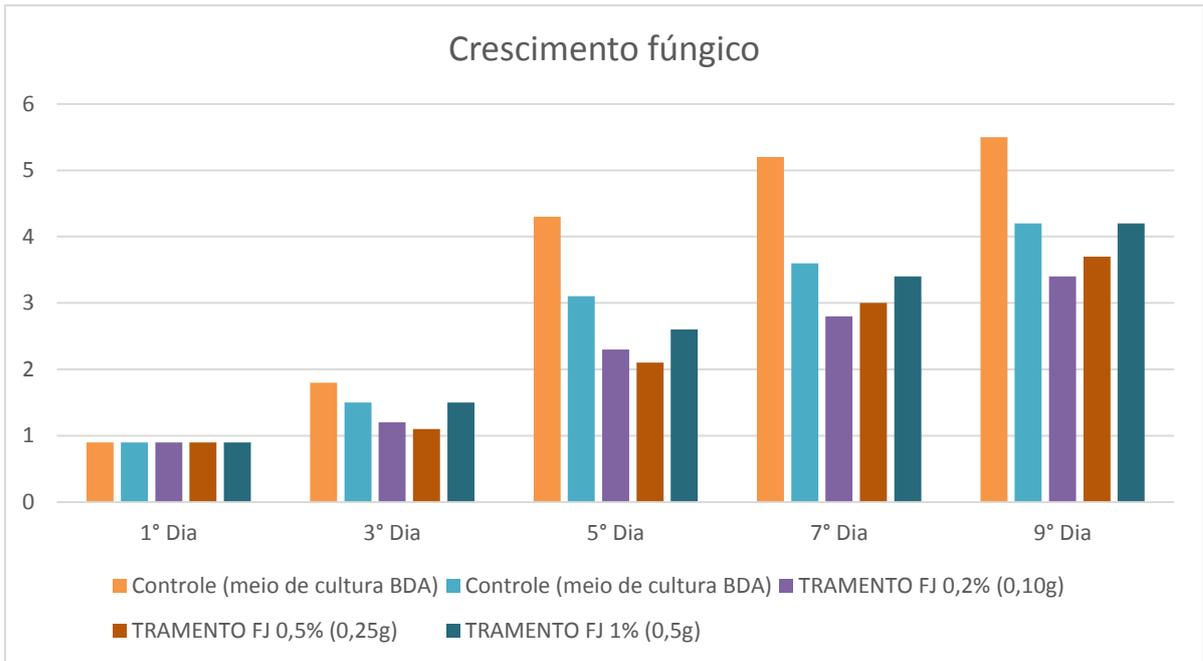
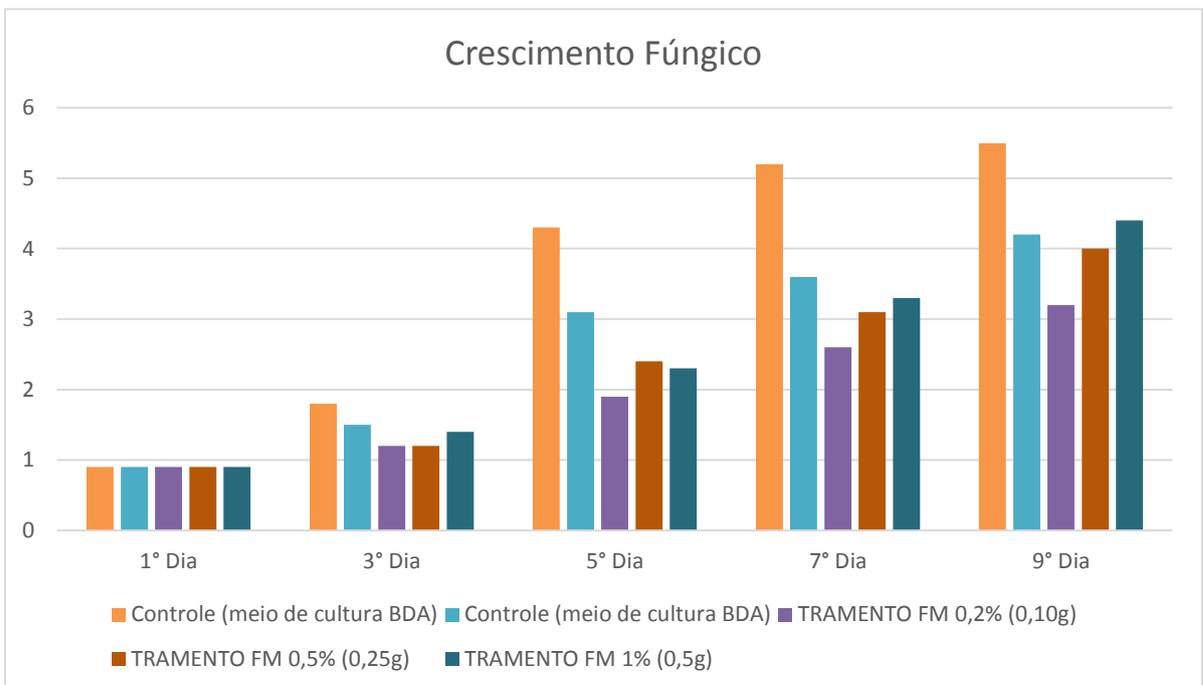


Gráfico 02: Desenvolvimento micelial do fungo *Colletotrichum gossypii* frente aos extratos de *Annona muricata* L., folhas maduras, nas concentrações de 0,2%, 0,5% e 1%.



A partir do crescimento dos discos de micélio do fitopatógeno a partir do terceiro dia foi possível observar atividade inibitória nas placas controle contendo meio de cultura BDA, DMSO e óleo mineral. No nono dia, quando comparadas as placas contendo os tratamentos de 1%, onde possui maior concentração dos extratos, foi verificado que os extratos não inibiram o desenvolvimento micelial do fungo e que a solução contendo DMSO e óleo mineral promoveram atividade inibitória.

O crescimento fúngico nas placas controles e nas placas de tratamento de FJ (folhas jovens) e FM (folhas maduras) com suas respectivas concentrações podem ser observadas na figura 34 a,b,c,d,e,f,g, e h.

Figura 34: Desenvolvimento micelial do fitopatógeno *Colletotrichum gossypii*.

- a) Placa controle (BDA). b) Placa controle (BDA, DMSO e óleo mineral).



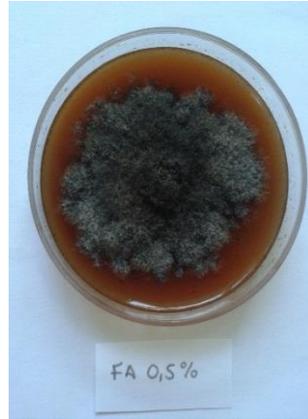
- c) Tratamento FJ 0,2% d) Tratamento FM 0,2%



e) Tratamento FJ 0,5%



f) Tratamento FM 0,5%



g) Tratamento FJ 1%

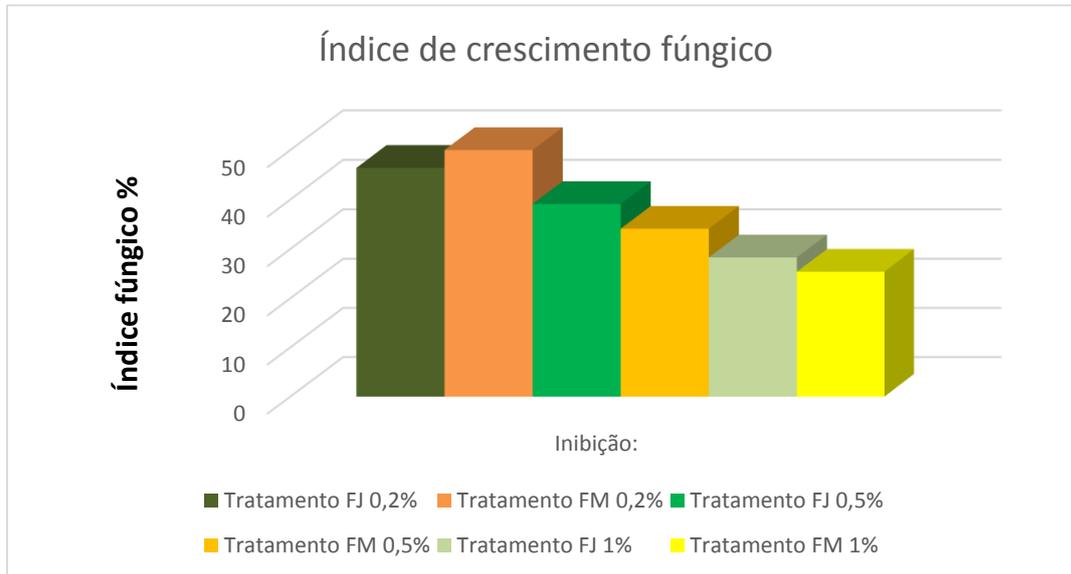


h) Tratamento FM 1%



O gráfico 03 auxilia em uma comparação dos efeitos observados para os extratos das folhas jovens e maduras nos testes realizados. Além disso, constata-se que a atividade inibitória observada é devida aos sistemas DMSO e óleo mineral.

Gráfico 03: Comparação dos percentuais de inibição do desenvolvimento micelial de *Colletotrichum gossypii* frente aos tratamentos FJ (folhas jovens) e FM (folhas maduras).



Os percentuais de inibição do desenvolvimento micelial confirmaram que a atividade inibitória é devida ao controle (DMSO e óleo mineral), uma vez que, o maior percentual medido correspondia ao tratamento 0,2 %, ou seja, quanto menor a concentração de extrato maior o percentual inibitório.

6 – CONCLUSÃO

A partir das folhas jovens e maduras de *Annona muricata* L. foram obtidos 226,59 g e 64,4 g, respectivamente. Ambos os extratos foram submetidos a caracterização química e avaliação do potencial fungicida frente ao fitopatógeno *Colletotrichum gossypii*.

A análise de caracterização fitoquímica indicou em folhas jovens a presença de fenóis, flavonoides, catequinas, sesquiterpenolactonas e outras lactonas, carotenoides, esteroides e triperpenoides, depsídeos e depsídonas e saponinas. Em folhas maduras foi observado a presença de taninos, flavonoides, catequinas, sesquiterpenolactonas e outras lactonas, carotenoides, depsídeos e depsídonas e saponinas o que está em conformidade ao descrito na literatura.

Nos testes realizados para avaliação do potencial fungicida não foi observado efeito inibitório do desenvolvimento micelial. Além disso, a partir da análise dos controles utilizados (BDA, BDA, óleo mineral e DMSO) foi verificado que o controle BDA, óleo mineral e DMSO apresentou atividade inibitória do desenvolvimento micelial.

Diante o exposto pretende-se o isolamento dos constituintes químicos dos extratos pelo grupo de pesquisa de Produtos Naturais e posterior investigação de outras possíveis atividades biológicas como por exemplo, anticancer, antioxidante, entre outros.

REFERÊNCIAS

- ABREU, C, L, M., **Controle de *Alternaria solani* em tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. Fevereiro 2006. 82 p. Tese (Doutorado em Agronomia-Horticultura) Universidade Estadual Paulista "Julho Mesquita Filho", São Paulo, Botucatu, 2006.
- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. Edited By: Matt Dickinson. Burlington, Massachusetts - USA: Elsevier Academic, ed. 5. 922 p., 2005.
- ALVES, R. S.; SILVA, M. S.; RABELO, A. R.; ESPINDOLA, L. S.; SILVA, E. M.; PAULA, J. E.; LIMA, T. R.; VIEIRA, E. A.; ANJOS, J. R. N. **Extratos orgânicos de plantas nativas do cerrado dos gêneros *Cibistax*, *Tabebuia*, *Arrabeia* e *Anemopaegma* (Familia Bignoniaceae) não apresentaram atividade antimicrobiana contra varios fungos fotopatogênicos**. II Simpósio Internacional Savanas tropicais. Parlamundi, Brasília-DF. Outubro de 2008.
- AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. (Editores). **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. Editora ceres, 4 ed. v 1. São Paulo: Piracicaba, 2011.
- BAILEY, A. J.; JEGER, J. M. ***Colletotrichum*: biology, pathology and control**. Oxford: British Society for Plant Pathology. 388 p., 1992.
- BARBOSA, T. N. R. M.; FERNANDES, D. C. **Compostos bioativos e doenças cardiovasculares: Revisando as evidências científicas**. Goiás, Goiânia, v.41, n. 2, p. 181-192, 2014.
- BARBOSA, W. L. R.; QUIGNARD, E.; TAVARES, I. C. C.; PINTO, L. N.; OLIVEIRA, F. Q.; OLIVEIRA, R. M. **Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais**. Revista Científica da UFPA. Belém-PA. v 4, 2004.
- BARON, D. **Desenvolvimento de plantas jovens de *Annona emarginata* (SCHLTDL.) H. Rainer (Araticum-de-terra-fria) cultivadas em solução nutritiva**. São Paulo, 2010. 111 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, 2010.

BASKAR, R.; RAJESWARI, V.; KUMAR, T. S. **In vitro oxidant studies in leaves of *Annona species***. *Indian Journal of experimental biology*, v 45, n. 5, p. 480-485, 2007.

BATISTA, T. F. C.; ALVES, K. F.; SANTOS-FILHO, B. G.; RODRIGUES, R. C.; OLIVEIRA, F. C.; TAVARES, A. E. B. **Ocorrência de fungos e nematóides fitopatogênicos em áreas reflorestadas pela Petrobrás oriundas da exploração petrolífera no município de Coari (AM)**. *Revista de Ciências Agrárias*. v 47, p. 163-171, 2007.

BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIN, L. **Manual de fitopatologia**. Princípios e conceitos. V 1, 3ª ed.; São paulo: Agronômica Ceres, 1995.

BIANCHINI, R.; PENTEADO, M. V. C. **Carotenóides de pimentões amarelos (*Capsicum Annuum, L.*)**. **Caracterização e verificação de mudanças com o cozimento**. São Paulo, 145 p., 1998.

BRASIL, **Lista de registro simplificado de fitoterápicos da ANVISA**. Resolução RE nº 89, de 16 de março de 2004.

CARDOSO, M. **Purinas**. Disponível em: <<http://www.infoescola.com/bioquimica/purinas/>> Acesso em: 5 de março de 2015.

CHUN, S.-S.; VATEM, D. A.; LIN, Y.-T.; SHETTY, K.; **Process Biochem**. v 40, 809 p., 2005.

CIA, E.; SALGADO, C.L. **Doenças do algodoeiro**. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (ed.) **Manual de Fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, v 2, p. 47-48, 2005.

COSTA- LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N.,MADEIRA,S. V. F.;PESSOA, C.;MORAIS, M. O. **A contribuição dos produtos naturais como fonte de novos fármacos anticâncer; Estudos no laboratório nacional de oncologia experimental da universidade federal do ceará**. Publicado: 30/08/2010, Virtual Química. p. 47-58., 2010.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. **Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health.** Natural Products Reports. v 26, n. 8, p. 1001-43, 2009.

DEWICK, P. M.; **Medicinal Natural Products.** A Biosynthetic Approach. John Wiley & Sons Ltda. v 2, p. 132-398, 2002.

FERERES, E.; ORGAZ, F.; GONZALEZ-DUGO, V. **Reflections on food security under water scarcity.** Journal of Experimental Botany. v 62. p. 4079-86., 2011.

FREIRE, E.C., FARIAS, F.J.C., AGUIAR, P. & ARAUJO, A.E. **Comportamento de novas cultivares e linhagens com relação a doenças no Centro-Oeste-safra 1998/99.** Anais do II Congresso Brasileiro de Algodão, 5-10 de setembro de 1999, Embrapa Algodão, Ribeirão Preto, p.454-457., 1999.

FUZATTO, M.G., CIA, E., CHIAVEGATO, E.J., PIZZINATTO, M.A., ERISMANN, N.M. & ZIMBACK, L. **Variabilidade genética e potencial de seleção para resistência à ramulose em cultivares e linhagens avançadas de algodoeiro.** Anais do II Congresso Brasileiro de Algodão 5 a 10 de setembro de 1999, Embrapa-Algodão, Ribeirão Preto, p. 473-475,1999.

GADELHA, J.C. **Controle preventivo e curativo da podridão pós-colheita de frutos de melão com produto alternativo.** 2002. 37 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia).. Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2002.

GOMES, F. S. **Carotenóides: uma possível proteção contra o desenvolvimento de câncer.** Campinas, v 20, n 5, p. 537-548, 2007.

HAWKSWORTH, D. L., B. C. SUTTON, and G. C. AINSWORTH. In: **Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi.** Commonwealth Agricultural Bureau International, Kew, p. 30-31, 1983.

HONDA, N. K.; VILEGAS, W. **Química dos líquens.** Química Nova, p. 110-125, 1998.

LAPASIN, R.; PRICL, S. **Rheology of industrial polysaccharides – Theory and applications.** Gaithersburg: Aspen publishers. 620 p., 1999.

LOBÃO, A. Q.; ARAÚJO, D. S. D.; KURTZ, B. C. **Annonaceae das retingas do estado do Rio de Janeiro**. Brasil. p. 85-96., 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais do Brasil: Nativas e exótica cultivadas**. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum. p. 60, 2002.

LUNA, J. S. **Estudo de Plantas Bioativas**. 2006. 254 p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco, 2006.

MARTINEZ, S. S. **O Nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 142 p., 2002.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS J. E. **Plantas medicinais**. Universidade Federal de Viçosa, 2003. 5ª reimpressão. Minas Gerais. p. 18-19, 2003.

MEHTA, Y.R., PAES, W. A. & FREIRE, E.C. **Reação de algumas cultivares do algodoeiro a *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides***. Anais do III Congresso Brasileiro de Algodão, 27 a 31 de agosto de 2001, Embrapa-Algodão, Campo Grande, p.584-586, 2001.

MEHTA, Y.R., ZANDONÁ, C., BIBANCO, K., ALMEIDA, W.P., TEIXEIRA, E. A., CUNHA, H.C. & ERIVALDO, J. **Resposta diferencial de cultivares comerciais do algodoeiro a *Colletotrichum gossypii* var. *cephalosporioides***. Summa Phytopathologica v 31, 142-145 p., 2005.

MENEZES, M. **Aspectos biológicos e taxonômicos de espécies do gênero *Colletotrichum***. Academia pernambucada de ciência agrônômica. Recife, Pernambuco, v 3, p. 170-179., 2006.

MONTANARI, A. C.; BOLZANI, V. S. **Planejamento racional de fármacos baseados em produtos naturais**. Ver. Química nova, v 24, n 1, p. 105-111, 2001.

MONTEIRO, J. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; ARAÚJO, E. L.; AMORIM, E. L. C. **Taninos: uma abordagem da química à ecologia**. Revista Química nova, v 28, n 5, p. 892-896, 2005.

NACZK, M.; SHAHIDI, F.; **Journal of Chromatography A.** v 1054, p.95, 2004.

NIJVELDT, R. J.; NOOD, E.; HOORN, D. E. C.; BOELENS, P. G.; NORREN, K.; LEEUWEN, P. A. M. **American Journal of Clinical Nutrition.**, v 74, p. 418, 2001.
[\[PubMed\]](#)

PINHEIRO, M. L. B. et al. **Constituintes químicos de Annona amazônica R. E. Fries (Annonaceae).** In: 32ª Reunião anual da sociedade Brasileira de química. Fortaleza-CE. 2009.

RINALDI, M. V. N. **Avaliação da atividade antibacteriana e citotóxica dos alcalóides isoquinolínicos de Annona hypoglauca.** 125 p. Dissertação de mestrado- Faculdade de Ciências farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 2007.

RODRIGUES, E.DOS.A.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; SCAPIM, C.A.; FIORITUTIDA, A.C.G. **Potencial da planta medicinal Ocimum gratissimum no controle de Bipolaris sorokiniana em sementes de trigo.** Acta Scientiarum, v 28, p. 213-220, 2006.

SANTOS, I. T. B. F.; SANTOS, T. S.; SILVA, F. L. S.; GAGLIARDI, P. R.; JUNIOR, L. F. G. O.; BLANK, A. F. **Óleo essencial de Schinus terebinthifolius Raddi como controle alternativo de Colletotrichum gloeosporioides e Lasiodiplodia theobromae, fungos fitopatogênicos de pós-colheita.** Revista GEINTEC – ISSN: 2237-0722. São Cristóvão/SE – v 4, n. 4, p.1409-1417, 2014.

SILVA, C. R. S.; GOMES, V. S.; KULKAMP, I. C.; KANIS L. A. **Método espectroscópico para determinação de cumarina em xarope de Mikania Glomerata Sprengel.** Revista Brasileira de Farmacognosia. v 18, n 4, p. 594-599, 2008.

SILVA, I. D.; TAKATSUKA, F. S.; ROCHA, M. R.; CUNHA, M. G. **Efeito do extrato de sucupira (Pterodon emarginatus Vog.) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos.** Pesquisa Agropecuária Tropical, v 35, n 2, p. 109 - 115, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R.; ***Farmacognosia - da Planta ao Medicamento***. 5ª ed., Editora da UFSC: Santa Catarina, 2004.

SOUZA, E. B. R. **Análise exploratória do efeito do solvente na análise de metabólitos secundários das folhas de *Annona muricata* L. por métodos quimiométricos**. Paraná, 104 p. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Londrina, 2009.

PUNJA, Z. K.; UTKHEDE, R. S. **Using fungi and yeasts to manage vegetable crop diseases**. Trends Biotechnol. v 21, p. 400-407, 2003.

ZAMBOLIN, L.; DO VALE, F.X.R.; COSTA, H.; JULIATTI, F.C. Manejo integrado – medidas de controle. In: DO VALE, F.X.R.; JUNIOR, W.C.J.; ZAMBOLIN, L. **Epidemiologia aplicada ao manejo de doenças de plantas**. Belo Horizonte: Editora Perffil, p.465-520, 2004.



FUNDAÇÃO CASA DA CULTURA DE MARABÁ
 “Patrimônio público municipal desde 1997”
 CNPJ: 22936439/0001-63
 Folha 31, Quadra Especial, Lote 01 - Nova Marabá
 Caixa Postal 172 - Fone/Fax (94) 3322-2315, 3322-4176
 CEP 68.508-970 - Marabá - PA
 E-mail: fccmadm@gmail.com/herbariofccm@hotmail.com



Laudo de Identificação Botânica

Recebemos para identificação 4 amostras graviola, comprovamos que as mostras são de *Annona muricata* L.

Características gerais: É uma árvore que cresce até 8 m de altura. A casca do caule é aromática, as folhas são alternas medido até 8-15 cm de comprimento, verdes e vernicosas na página superior e com bolsas na axila das nervuras laterais na página inferior, ligeiramente tomentosas. Inflorescência solitária, com cálice de sépalas triangulares e pétalas externas grossas de corres amareladas. O fruto é uma baga de forma irregular, mais ou menos ovóide, de 25-35 cm de comprimento, com polpa mucilaginosa e levemente acida, cada aréola ou saliência cônica tendo no ápice um espinho comprido, mole e recurvado.

Planta estudada por: Prof. Matos e de Harri Lorenzi; Theodoro Peckolt, fitoquímico; Caminhoá, botânico

Adriele Sales Santos

Adriele Sales
 Coordenadora do Setor de Botânica

Marabá/PA, 7 de Janeiro de 2015.

