



**FACULDADE DA REGIÃO SISALEIRA**  
**BACHARELADO EM BIOMEDICINA**

**LUIZ HENRIQUE DE SOUZA PEREIRA**

**EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE VELAME (*Croton campestris*) NO CONTROLE  
DO *Aspergillus welwitschiae*, CAUSADOR DA PODRIDÃO VERMELHA DO SISAL,  
E SUA TERMORRESISTÊNCIA**

**CONCEIÇÃO DO COITÉ – BA**

**2023**

**LUIZ HENRIQUE DE SOUZA PEREIRA**

**EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE VELAME (*Croton campestris*) NO CONTROLE  
DO *Aspergillus welwitschiae*, CAUSADOR DA PODRIDÃO VERMELHA DO SISAL,  
E SUA TERMORRESISTÊNCIA**

Artigo científico submetido como Trabalho de Conclusão de Curso para o curso de Bacharelado em Biomedicina como requisito de avaliação da disciplina TCC II.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Mota da Silva.

**CONCEIÇÃO DO COITÉ – BA**

**2023**

Ficha Catalográfica elaborada por:  
Carmen Lúcia Santiago de Queiroz – Bibliotecária  
CRB: 5/001222

P414 Pereira, Luiz Henrique de Souza

Extrato Hidroalcoólico de Velame (*Croton campestris*) no controle do *aspergillus welwitschiae*, causador da podridão vermelha do sisal, e sua termorresistência/ Luiz Henrique de Souza Pereira. – Conceição do Coité:FARESI,2023.  
21f.;il.color.

Orientador: Prof. Prof. Dr. Rafael Mota da Silva.  
Artigo científico (bacharel) em Biomedicina. – Faculdade da Região Sisaleira (FARESI). Conceição do Coité, 2023.

1 *Agave sisalana*. 2 *Aspergillus welwitschiae*. 3 *Croton campestris*. I Faculdade da Região Sisaleira – FARESI.II Silva, Rafael Mota da III Título.

CDD:610

**LUIZ HENRIQUE DE SOUZA PEREIRA**

**EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE VELAME (*Croton campestris*) NO CONTROLE  
DO *Aspergillus welwitschiae*, CAUSADOR DA PODRIDÃO VERMELHA DO SISAL,  
E SUA TERMORRESISTÊNCIA**

Artigo científico apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina, pela Faculdade da Região Sisaleira.

Aprovado em 8 de novembro de 2023.

**Banca Examinadora:**

Ana Paula de Araújo Oliveira / [anp.biomedica@gmail.com](mailto:anp.biomedica@gmail.com)

Ingrid Medeiros de Oliveira / [ingrid.medeiros@faresi.edu.br](mailto:ingrid.medeiros@faresi.edu.br)

Rafael Mota da Silva / [rafael.mota@faresi.edu.br](mailto:rafael.mota@faresi.edu.br)

Rafael Reis Bacelar Antón / [rafael.anton@faresi.edu.br](mailto:rafael.anton@faresi.edu.br)



Rafael Reis Bacelar Antón  
Presidente da banca examinadora  
Coordenação de TCC – FARESI

Conceição do Coité – BA  
2023

**EXTRATO HIDROALCOÓLICO DE VELAME (*Croton campestres*) NO CONTROLE DO *Aspergillus welwitschiae*, CAUSADOR DA PODRIDÃO VERMELHA DO SISAL, E SUA TERMORRESISTÊNCIA**

Luiz Henrique de Souza Pereira<sup>1</sup>

Rafael Mota da Silva<sup>2</sup>

**RESUMO**

O sisal ou *Agave sisalana* é uma planta que foi introduzida no Brasil em 1903, atualmente o cultivo se concentra na região nordeste e a Bahia lidera a produção nacional. Uma doença que pode acometer a planta é a Podridão Vermelha do Sisal, causada por um fungo que faz parte da microbiota do solo, o *Aspergillus welwitschiae*, a doença torna as folhas impróprias para extração das fibras e leva a planta a morte. Urge a necessidade do desenvolvimento de controles alternativos para o fungo causador da doença, uma vez que não há fungicidas registrados para cultura e as técnicas de manejo nem sempre são realizadas. Nesta pesquisa foi testado o extrato hidroalcoólico de Velame ou *Croton campestres*, planta abundante no semiárido baiano com muitos relatos na literatura de suas propriedades. Foram realizados experimentos *in vitro* onde o extrato hidroalcoólico de *C. campestres* – autoclavado e não autoclavado – foi testado nas concentrações de 5, 10, 20 e 40% adicionados ao meio de cultura BDA no qual o fitopatógeno foi inoculado. Em ambas as formas o extrato demonstrou possuir atividade antifúngica – detendo assim propriedades termotolerantes – nas concentrações de 20 e 40%, sobretudo com 40% de extrato. Faz-se necessária a elucidação dos mecanismos do complexo *A. sisalana* – *A. welwitschiae* para o desenvolvimento de um produto biotecnológico útil e sem riscos à saúde humana e ambiental.

Palavras-chave: *Agave sisalana*; *Aspergillus welwitschiae*; *Croton campestres*; Controle alternativo.

**ABSTRACT**

Sisal or *Agave sisalana* is a plant that was introduced in Brazil in 1903, currently cultivation is concentrated in the northeast region and Bahia leads national production. A disease that can affect the plant is Sisal Bole Rot, caused by a fungus that is part of the soil microbiome, *Aspergillus welwitschiae*. The disease makes the leaves unsuitable for fiber extraction and leads to the plant's death. There is an urgent need to develop alternative controls for the fungus that causes the disease, since there are no fungicides registered for the crop and management techniques are not always carried out. In this research, the hidroalcoholic extract of Velame or *Croton campestres* was tested, an abundant plant in the semi-arid region of Bahia with many reports in the literature of its properties. *In vitro* experiments were carried out where the hidroalcoholic extract of *C. campestres* – autoclaved and non-autoclaved – was tested at concentrations of 5, 10, 20 and 40% added to the PDA culture medium in which the phytopathogen was inoculated. In both forms, the extract demonstrated antifungal activity – thus having thermotolerant properties – at concentrations of 20 and 40%, especially with 40% extract. It is necessary to elucidate the mechanisms of the *A. sisalana* – *A. welwitschiae*

<sup>1</sup> Discente do curso de Biomedicina. Faculdade de Região Sisaleira – FARESI. luizhenrique.pereira@faresi.edu.br

<sup>2</sup> Docente do curso de Biomedicina. Faculdade da Região Sisaleira – FARESI. rafael.mota@faresi.edu.br

complex for the development of a useful biotechnological product without risks to human and environmental health.

**Keywords:** *Agave sisalana*; *Aspergillus welwitschiae*; *Croton campestris*; **Alternative control.**

## 1. INTRODUÇÃO

O Sisal ou *Agave sisalana Perrine* é uma planta originária de Iucatã – México e foi introduzida no Brasil em 1903. Em território brasileiro o cultivo se concentra na região Nordeste, sendo o estado da Bahia líder (93,5%) na produção nacional (Martin *et al.*, 2009). Não obstante um conjunto de 20 municípios baianos foi denominado de Região Sisaleira que, dentre outras, tem a produção de sisal como principal atividade econômica, sendo ela responsável por 77% do PIB agropecuário municipal (Silva, 2010). Além de movimentar o cenário econômico, o cultivo de sisal se constitui como um determinante fixador da população ao território visto que, dado o clima e o solo, é uma das melhores alternativas de cultivo que trazem resultados satisfatórios (Silva *et al.*, 2008).

Os principais produtos gerados do cultivo de sisal são as fibras (que abastecem cerca de 70% do mercado mundial de fibras duras), a seiva (a qual contém hecogenina, usada na produção de cortisona), os resíduos do desfibramento (dos quais pode se produzir pectato de sódio e cera) e as varas do pendão floral (usadas na cobertura de casas e construção de cercas) (Silva *et al.*, 2008). Os resíduos da indústria do sisal podem ser ainda potências larvicidas (Pizarro *et al.*, 1999) ou antimicrobianos eficazes para *Candida albicans* (Santos *et al.*, 2009).

Dentre as doenças que podem acometer a planta e prejudicar veementemente a produção da mesma está a Podridão Vermelha do Sisal e a atenção dessa pesquisa se volta para o fitopatógeno *Aspergillus welwitschiae* pois ele é o fungo causador dessa fitopatologia. Tudo começa com uma mudança de cor nas folhas, as quais se tornam amarelo-arroxeadas, juntamente com uma murcha progressiva e na parte interna do tronco há uma descoloração dos tecidos (inicialmente vermelho-róseo e depois cinza escuro), culminando na podridão generalizada, ou seja, a doença torna as folhas impróprias para extração das fibras e finaliza levando a planta a morte (Batista *et al.*, 2010). Por se tratar de um problema fitossanitário tão importante já existem na literatura relatos do uso de substâncias e até microrganismos para controle do fungo (Souza e Soares 2013; Sá, 2013; Damasceno, 2012; Magalhães, 2013). Se busca por alternativas para o controle do fitopatógeno, uma vez que o controle químico não pode ser adotado, devido à ausência de fungicidas registrados ou ainda por representar uma

elevação dos custos de produção (Batista *et al.*, 2010). Resta a utilização de fungicidas advindos de plantas, os quais são utilizados há séculos (Souza, 2010).

A escolha de realizar experimentos para testar a eficácia do extrato de *Croton campestris* no controle do fungo *A. welwitschiae* se justifica uma vez que se trata de uma planta abundante no semiárido e região sisaleira, um arbusto de 1-2 metros de altura originário do Brasil (Lima *et al.*, 2016) com diversos relatos na literatura dos seus usos e propriedades, a exemplo do uso no combate a doenças venéreas, moléstias de pele, úlceras no útero, artritismo, diarreia (Cruz, 1982; Júnior *et al.*, 2014), uso do extrato obtido das folhas da planta com potencial para modificar e interferir na resistência bacteriana a aminoglicosídeos (Lavor *et al.*, 2014; Júnior *et al.*, 2011), ou ainda uso do óleo essencial e extrato hidroalcoólico obtido das folhas e galhos da planta que contém potencial atividade antimicrobiana e antibiótica (Almeida *et al.*, 2013; Babili *et al.*, 2009), bem como toxicidade considerável sobre *Drosophila melanogaster* (Júnior *et al.*, 2016) e atividade moluscocida contra *Bulinus truncatus* (Babili *et al.*, 2006).

O objetivo geral da presente pesquisa é testar a eficácia do extrato hidroalcoólico de *Croton campestris*, em diferentes concentrações, autoclavado e não autoclavado, no controle do fungo *Aspergillus welwitschiae*. Os objetivos específicos são avaliar a termoresistência do extrato hidroalcoólico de Velame e avaliar a eficácia do extrato hidroalcoólico autoclavado e não autoclavado de Velame no controle da germinação de esporos do fungo *A. welwitschiae*.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 *Aspergillus welwitschiae***

O fungo aqui estudado faz parte do gênero de fungos filamentosos *Aspergillus*, é relativamente fácil de se identificar a espécie *welwitschiae* devido sua apresentação micelial esbranquiçada/amarelada de onde partem conídios escuros. Estudos demonstram que o fitopatógeno pode acometer não só o sisal, mas uma gama de vegetais como cenoura, feijão, brócolis, rabanete, repolho com flor chinesa, mostarda de raiz, repolho, couve chinesa sem cabeça, pimenta, alface, colza, tomate e pepino (Li *et al.*, 2023). O que pode representar risco inclusive para a saúde humana, haja vista que esses isolados podem produzir metabólitos secundários, como fumosinas e ocratoxinas, que fazem parte das estratégias de invasão da matéria vegetal (Peixoto, 2019).

É importante citar que na literatura desatualizada é comum a correlação entre a podridão vermelha do sisal e o fungo *Aspergillus niger*, porém isso é fruto de uma identificação errônea. De fato, morfologicamente as duas espécies são indistinguíveis, mas do ponto de vista molecular Duarte e colaboradores (2018) elucidaram o *A. welwitschiae* como o verdadeiro causador da fitopatologia no sisal.

O fungo faz parte da microbiota do solo (Souza e Soares, 2010) e por isso mantém uma relação íntima com o cenário agrário sisaleiro. Ao estudar a prevalência e incidência do patossistema *A. niger* – *A. sisalana* e acompanhar 46 áreas de plantio distribuídas por 13 municípios componentes da região sisaleira por três anos consecutivos, Abreu (2010) concluiu que a podridão vermelha do tronco do sisal apresenta prevalência de 100% e incidência média variando entre 5 a 40%. Porcentagens tão altas podem ser explicadas tanto pela presença do fungo no solo, principalmente em alguns tipos de solo específicos, como por atitudes tomadas pelos produtores no processo do cultivo, como a coleta de folhas sem critério o uso de mudas e o uso de resíduo fresco de desfibramento do sisal como adubo. Essa última prática inclusive promove a severidade da doença (Carmo *et al.*, 2017).

Apesar disso o fungo pode ser utilizado na indústria biotecnológica como produtor de alguns compostos, *A. niger* e outros fungos semelhantes são amplamente usados como organismo vivo que produz moléculas complexas, ou *cell factory* (Braaksma *et al.*, 2010). Por exemplo, *A. niger* tem sido descrito como produtor de ácido cítrico quando incubado em altas concentrações de açúcar, bem provavelmente pela similaridade de espécie, *A. welwitschiae* também pode produzir (Peixoto, 2019).

## **2.2 *Agave sisalana* Perrine e a relação fungo-planta**

O sisal ou *Agave sisalana* Perrine foi introduzida no Brasil em 1903, trazida da Flórida pelo comendador Horácio Urpia Júnior. É uma planta semixerófita (se estabelece melhor em locais com muita luminosidade e clima quente) que possui folhas pontiagudas que medem cerca de 9 cm de largura e 1,5 m de comprimento, se trata de uma espécie da família *Agavaceae* e do gênero *Agave* (Souza, 2010). O Brasil lidera mundialmente a produção de sisal (Seplan, 2006) e nacionalmente a Bahia lidera a produção sisaleira, haja vista que no estado há o Território do Sisal (composta de 20 municípios). Apesar dos números altos nos rankings, atualmente a produção de sisal no Brasil tem sofrido declínio, boa parte devido as perdas para podridão vermelha do tronco do sisal (Peixoto, 2019).



Na relação fungo-planta é importante levarmos em consideração o processo de evolução das plantas, onde as mesmas desenvolveram um sistema de defesa complexo e com muitas camadas, incluindo uma barreira física primária e duas camadas de resposta patógeno- induzida (Peixoto, 2019). No caso da podridão vermelha do tronco do sisal, basicamente o fungo invade a planta através de cortes na base das folhas no momento da extração das mesmas, quando feita com ferramentas contaminadas, ou ainda quando há a transmissão planta-planta, por isso é importante a realização de inspeções nos campos de cultura afim de identificar alguma planta doente e a tomada de medidas/técnicas de manejo (Batista *et al.*, 2010).

As técnicas de manejo que podem ser performadas pelos produtores têm o poder de reduzir veementemente a disseminação e incidência da doença no campo de cultura. Podem ser tomadas medidas na coleta e uso de mudas (deve haver precaução para que os rebentos colhidos para formação de novas áreas plantio não tenham advindo de plantas contaminadas, além disso deve-se evitar o contato dos bulbilhos com o solo); antes, durante e após a extração das folhas (deve-se realizar verificações prévias em busca de plantas com sinais da doença e incinerá-las, durante a extração das folhas deve-se utilizar ferramentas previamente descontaminadas com hipoclorito de sódio ou cálcio com cloro ativo a 2% e a extração não deve ocorrer em períodos chuvosos ou com alta umidade relativa do ar, pois esses fatores climáticos tornam a planta mais vulnerável durante a cicatrização dos cortes); na adubação com resíduos (o uso de resíduos do desfibramento do sisal como adubo deve advir de plantas saudáveis, caso contrário o adubamento promove a contaminação generalizada e sua severidade, a exceção é o uso de resíduos do desfibramento do sisal fermentados, uma vez que o mesmo tem ação fungitóxica) e ainda na detecção de plantas doentes (diz respeito a verificações periódicas em busca de plantas com sintomas da doença afim de identificar focos iniciais no campo de plantio, quando detectadas, as plantas devem ser retiradas da área de plantio e incineradas) (Batista *et al.*, 2010; Silva *et al.*, 2009).

Associada às técnicas de manejo pode-se fazer uso de controles alternativos aos meios sintéticos ou ainda biocontrole (Cook & Baker, 1983) Um exemplo é o uso do extrato de plantas, pratica que advém do estabelecimento de uma consciência ecológica, gerando a necessidade de ampliar o uso de produtos naturais (Venturoso *et al.*, 2011). As vantagens sobre produtos sintéticos são várias: menor toxicidade ao ambiente e às pessoas que transitam nos espaços de cultura, são compostos que se degradam de forma rápida no ambiente, geralmente são derivados de recursos renováveis (Santos *et al.*, 2013), além de poderem

apresentar ação fungicida, citotóxica, antiviral, inseticida, moluscocida, entre outras (Sartori *et al.*, 2011). É muito comum o uso desses compostos botânicos de forma empírica, faz-se necessário uma investigação e elucidação dos mecanismos envolvidos nos processos de inibição para que possamos utilizar esses recursos botânicos naturais de forma eficiente e com máximo aproveitamento.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Amostra vegetal**

Foram utilizadas folhas de *Croton campestris* colhidas às margens da BA-411, trecho entre a cidade de Conceição do Coité e o distrito de Salgadália, no estado da Bahia, Brasil. A coleta aconteceu no período de setembro de 2023, onde galhos da planta foram coletados e posteriormente as folhas foram destacadas para uso.

#### **3.2 Obtenção do extrato hidroalcoólico de *C. campestris***

Para a obtenção do extrato hidroalcoólico foram utilizadas as folhas frescas de *Croton campestris* e uma solução hidroalcoólica a 50%, através da metodologia de maceração hidroalcoólica. A maceração é uma metodologia pouco custosa, simples, porém demorada. Consiste em um processo onde a matriz sólida é embebida em um solvente e por conta dos fenômenos de transferência de massa o extrato pode ser obtido (Kotovicz *et al.*, 2021).

Posteriormente esse extrato foi filtrado com auxílio de papel filtro qualitativo e funil de vidro afim de eliminar quaisquer resíduos sólidos. O extrato foi submetido ao aquecimento em uma manta aquecedora para evaporação do álcool da solução, pois o mesmo poderia influenciar na ação do extrato sobre o fungo. Afim de testar a termoresistência do extrato de *Croton campestris* foram feitos dois experimentos: o primeiro, onde o extrato foi adicionado ao meio de cultura após autoclavagem e o segundo, onde o extrato foi adicionado ao meio de cultura e a mistura foi autoclavada.

#### **3.3 Ensaios microbiológicos**

As colônias fúngicas de *A. welwitschiae* foram cedidas pelo Laboratório de Microbiologia da UFRB – Universidade Federal do Recôncavo Bahiano. Foram preparados meios de cultura sólidos batata dextrose ágar (BDA) + ágar com diferentes concentrações do extrato em teste (5, 10, 20 e 40%) e sem adição do extrato testado, após isso os meios foram autoclavados em calor úmido (120°C a 1 ATM por 20 minutos). Os meios sem extrato

tiveram diferentes concentrações do mesmo adicionados e finalmente todos os meios foram vertidos nas placas de petri. Após vertidos, os mesmos passaram pelo processo de solidificação em uma câmara de fluxo laminar sob luz ultravioleta (UV), afim de evitar contaminações externas. Foram preparadas 5 repetições de cada tratamento, além de placas sem adição de extrato (o tratamento controle). O fungo foi inoculado com auxílio de uma alça de platina e a avaliação do crescimento micelial (a qual ocorreu com intervalos de 2 dias durante uma semana) foi realizada com uma régua milimetrada.

### **3.4 Contagem de esporos**

Para avaliação de esporulação foi adicionado nas placas de petri com a colônia fúngica 10 ml de solução salina + detergente, as colônias foram raspadas com uma alça de Drigalski e 1 ml da suspensão resultante foi retirada. Em seguida foi realizada a avaliação da concentração de esporos dessa solução (fazendo diluições em água destilada sempre que necessário) utilizando câmara de Newbauer e microscópio ótico (contabilizando 10 quadrantes na objetiva de 40x) obedecendo os cuidados que Alfenas e Mafia (2007) descrevem.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **4.1 Extrato de *Croton campestris* não autoclavado**

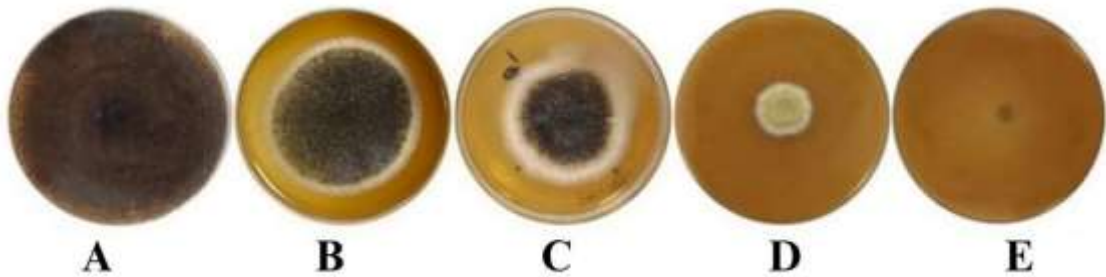
De acordo com os dados obtidos, observou-se que o extrato utilizado no experimento apresenta ação fungicida significativa. Os primeiros resultados mostram uma diminuição do crescimento micelial conforme se aumenta a concentração do extrato no meio (chegando a uma inibição total na maior concentração testada), bem como um crescimento em maior parte micelial.

No segundo dia de verificação do crescimento, percebeu-se que as impressões dos dias anteriores se mantêm: o extrato de *Velame* tem eficácia de inibição conforme se aumenta a concentração.

Na última verificação de crescimento, totalizando exatamente uma semana após a inoculação verificou-se que nas placas de BDA controle – as quais não foi adicionado nenhum tipo de extrato – houve um crescimento fúngico disseminado, ocupando toda a superfície do meio de cultura, já nas placas inoculadas com o extrato se confirmam os resultados vistos durante as avaliações passadas de crescimento: o extrato hidroalcoólico de

*Croton campestris* demonstra uma inibição escalonada com relação inversamente proporcional, quanto maior a concentração de extrato no meio menor o grau de desenvolvimento fúngico, chegando a uma inibição total com 40% de concentração. Isso pode ser visualizado da Figura 01.

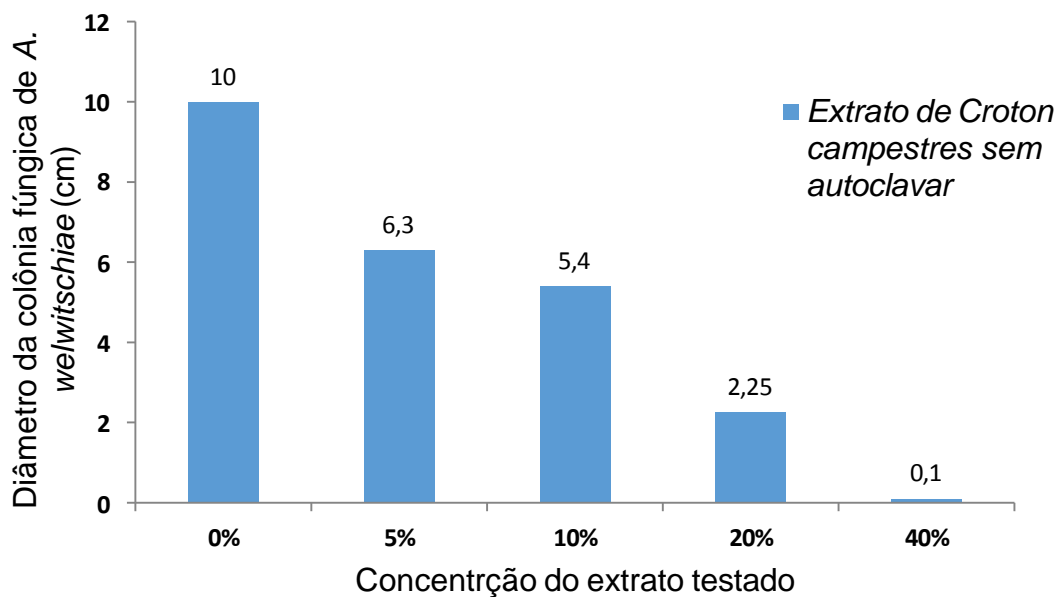
**Figura 01** - Crescimento micelial do *A. welwitschiae*: (A) B.D.A Controle; (B) 5% de extrato não autoclavado de *C. campestris*; (C) 10% de extrato não autoclavado de *C. campestris*; (D) 20% de extrato não autoclavado de *C. campestris*; (E) 40% de extrato não autoclavado de *C. campestris*.



Fonte: Elaboração própria (2023).

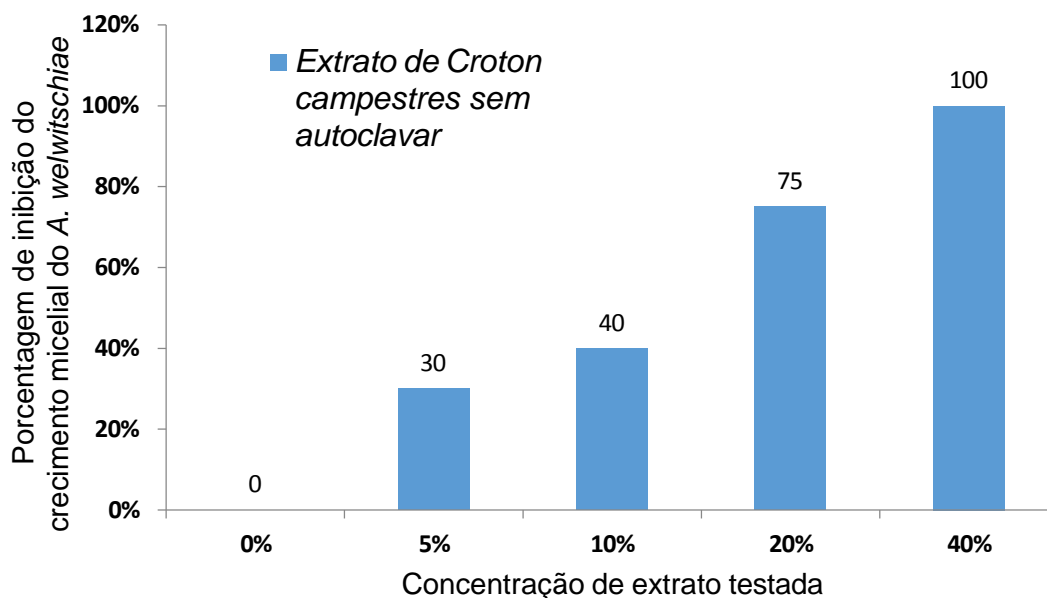
Os gráficos 01 e 02 demonstram a diminuição do diâmetro das colônias e a consequente taxa de inibição de crescimento fúngico com a presença dos extratos e suas respectivas concentrações testadas:

**Gráfico 01** – Diâmetro da colônia fúngica (cm) de *A. welwitschiae* em função das concentrações de extrato não autoclavado de *C. campestris* testadas.



Fonte: Elaboração própria (2023).

**Gráfico 02** – Percentual de inibição do crescimento fúngico das diferentes concentrações de extrato não autoclavado de *C. campestris* testadas.



Fonte: Elaboração própria (2023).

O resultado da contagem de esporos do tratamento com extrato não autoclavado é expressivo, como demonstrado na Tabela 01 podemos notar a diminuição do quantitativo de esporos com uma esporulação zerada na maior concentração testada, haja vista que não houve crescimento nos meios de cultura tratados com essa quantidade de extrato.

**Tabela 01** – Efeito das diferentes concentrações de extrato não autoclavado de *C. campestris* sobre a esporulação de *A. welwitschiae* em meio de cultura BDA.

CONCENTRAÇÃO DE EXTRATO NÃO AUTOCLAVADO (%)	CONTAGEM DE ESPOROS
0%	3,5E+09
5%	1,05E+09
10%	2,57E+08
20%	1,58E+08
40%	0

Fonte: Elaboração própria (2023).

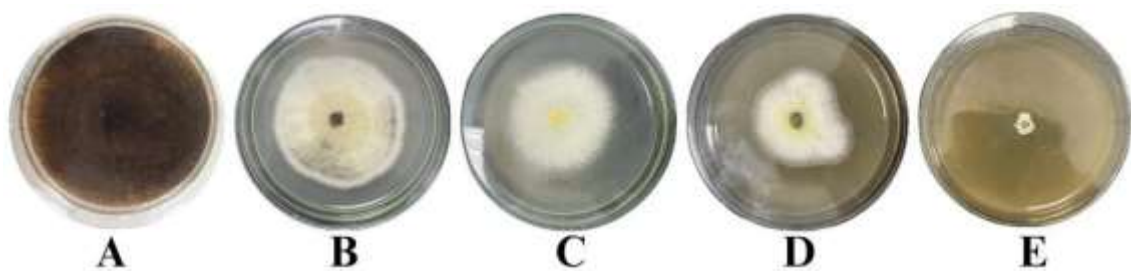
#### 4.2 Extrato de *Croton campestris* autoclavado

Os dados obtidos demonstraram que o extrato de *Croton campestris* apresenta um poder inibitório no crescimento do fungo *Aspergillus welwitschiae*. No primeiro dia de verificação de crescimento pôde-se verificar uma diâmetros de colônia semelhantes nas concentrações de 5 e 10%, diâmetro menor com 20% e ausência de crescimento no tratamento com 40% de extrato.

No segundo dia de verificação as impressões do primeiro dia se repetem, crescimento semelhante em 5 e 10%, colônia menor em 20% e ausência de crescimento em 40%. No segundo dia pôde-se observar que o crescimento até aquele momento se resumia a micelial, ou seja, o fungo não estava conseguindo replicar seus conídios. É perceptível a diferença no aspecto do tratamento sem extrato e nos tratamentos com extrato de *Velame*.

No terceiro e último dia de verificação de crescimento pôde-se concluir que o extrato hidroalcoólico de *Croton campestris* possui atividade antifúngica sobre o *A. welwitschiae*. As colônias fúngicas onde foram aplicados os tratamentos de 5, 10 e 20% demonstraram uma diferença no diâmetro pequena, entretanto, a colônia fúngica que se desenvolveu foi majoritariamente micelial, o que indica que o extrato testado impede a reprodução fúngica. Por fim o tratamento de 40% acaba por ser o mais exitoso na inibição do crescimento fúngico.

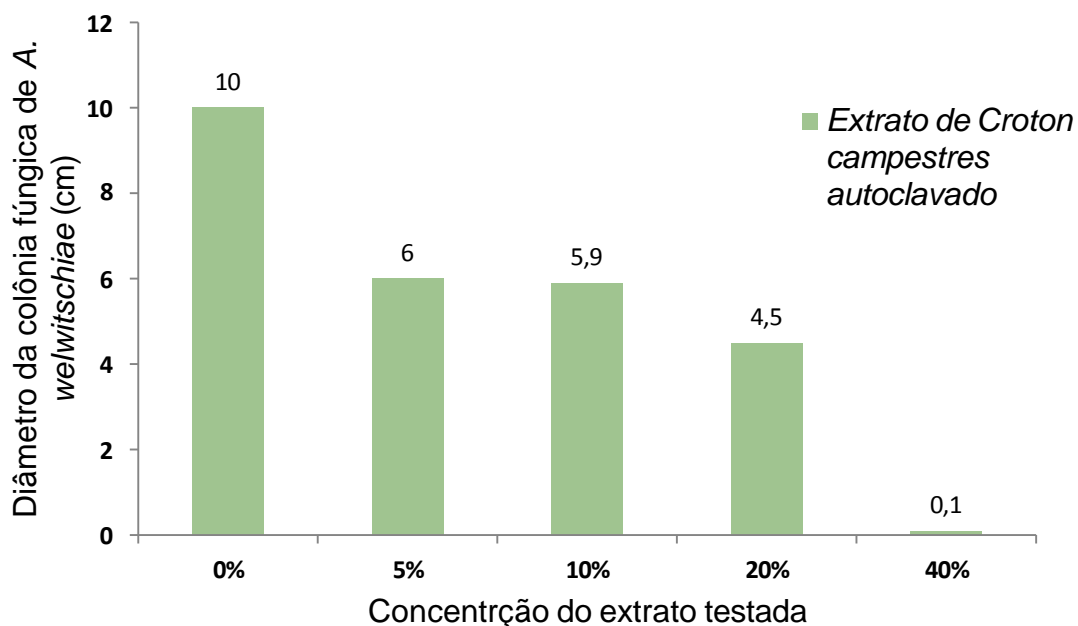
**Figura 02** – Crescimento micelial do *A. welwitschiae*: (A) B.D.A Controle; (B) 5% de extrato autoclavado de *C. campestris*; (C) 10% de extrato autoclavado de *C. campestris*; (D) 20% de extrato autoclavado de *C. campestris*; (E) 40% de extrato autoclavado de *C. campestris*.



Fonte: Elaboração própria (2023).

O gráfico 03 demonstra a relação entre a concentração de extrato testada e o diâmetro da colônia. Nota-se a relação inversamente proporcional, quanto maior a concentração de extrato testada, menor o diâmetro da colônia fúngica.

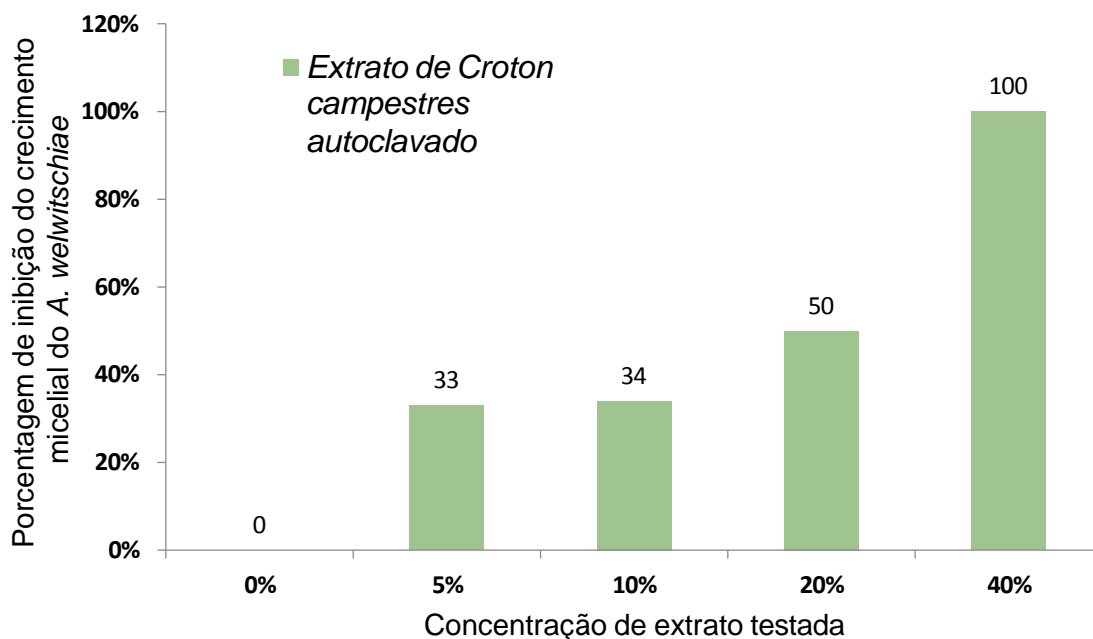
**Gráfico 03** – Diâmetro de crescimento da colônia fúngica em função das diferentes concentrações de extrato testadas.



Fonte: Elaboração própria (2023).

O gráfico 04 demonstra a porcentagem de inibição obtida pelas diferentes concentrações do extrato de *Velame autoclavado* testadas.

**Gráfico 04** – Percentual de inibição do crescimento fúngico nas diferentes concentrações de extrato testadas.



Fonte: Elaboração própria (2023).

A contagem de esporos dos tratamentos realizados com extrato de *Croton campestres* autoclavado é curiosa, como demonstrado na Tabela 02 podemos notar a não esporulação nas três maiores concentrações testadas, havendo esporos somente no tratamento com 5% de extrato.

**Tabela 02** – Efeito das diferentes concentrações de extrato autoclavado de *C. campestres* sobre a esporulação de *A. welwitschiae* em meio de cultura BDA.

CONCENTRAÇÃO DE EXTRATO AUTOCLAVADO (%)	CONTAGEM DE ESPOROS
0%	3,5E+09
5%	8,22E+08
10%	0
20%	0
40%	0

Fonte: Elaboração própria (2023).

#### 4.3 Comparando a eficácia do extrato autoclavado e não autoclavado de *Croton campestres* sobre o fungo *Aspergillus welwitschiae*

Com os experimentos realizados pôde-se perceber que o extrato hidroalcoólico de *Croton campestres*, autoclavado e não autoclavado, possui atividade antifúngica sobre *Aspergillus welwitschiae*. O que levanta a evidência de que as propriedades antifúngicas do extrato de *C. campestres* sobre *A. welwitschiae* são termorresistentes.

Há diferenças na potência do extrato autoclavado e não autoclavado: no primeiro percebe-se um percentual de inibição de crescimento do diâmetro das colônias de *A. welwitschiae* menor em comparação ao extrato não autoclavado, em compensação, com o extrato autoclavado o crescimento fúngico se constitui majoritariamente por estrutura micelial, como pode ser observado na Figura 02.

Isso é refletido na contagem de esporos, pode-se notar que o extrato de *C. campestres* autoclavado tem um potencial inibidor da esporulação de *A. welwitschiae* superior em comparação ao extrato não autoclavado. Essa característica pode ser atribuída ao processo de elevação de temperatura e pressão que o extrato autoclavado passou, sinergizando o potencial



inibitório da esporulação, que foi exitosa já nos testes com 10% de extrato autoclavado, diferentemente dos experimentos com o extrato não autoclavado, os quais foram sucedidos somente com 40% de concentração do mesmo no meio.

Os resultados exitosos obtidos não são em vão, na literatura podemos encontrar diversos relatos do uso de extratos de plantas com propriedades antifúngicas, atribui-se tais propriedades aos metabólitos secundários. Geralmente de estruturas complexas e baixo peso molecular (Berg e Lubert, 2008), foram considerados previamente como produtos de excreção, mas, demonstraram possuir atividade farmacológica extremamente útil para as áreas alimentar, agrônômica, de perfumaria, entre outras (Pereira e Cardoso, 2012). Existem vários tipos de metabólitos secundários, como terpenos, cumarinas, tanninos, flavonóides, os quais apresentam uma série de funções para a saúde humana ou ainda aos processos de controle de fitopatógenos (Morais, 2009).

## 5. CONCLUSÕES

Tendo em vista o exposto acima pode-se concluir que o extrato hidroalcoólico de Velame (*Croton campestris*), autoclavado e não autoclavado, promove a inibição de crescimento e esporulação do fungo *A. welwitschiae*, principalmente em concentrações de 20 e 40%, sobretudo na concentração a 40%. Conclui-se ainda que as propriedades antifúngicas do extrato hidroalcoólico de *Croton campestris* sobre o fungo *Aspergillus welwitschiae* são termorresistentes.

É importante salientar aqui que os testes *in vitro* indicam o potencial de uso do extrato de *Croton campestris* para o controle alternativo de *A. welwitschiae*, entretanto, no controle da podridão vermelha do sisal em si, a eficácia do extrato deve ser verificada, uma vez que a fisiopatologia envolve outros fatores e agentes.

A metodologia utilizada nessa pesquisa não pode responder qual composto específico promove a ação antifúngica e nem onde esse composto age. Faz-se necessário uma melhor elucidação dos mecanismos envolvidos no complexo *A. sisalana* – *A. welwitschiae* e no processo de inibição aqui verificado, dessa forma podemos avançar no detalhamento da relação fungo-planta e talvez desenvolvemos um produto biotecnológico que possa ser utilizado amplamente nas áreas de cultivo de sisal – associado às técnicas de manejo da doença – o qual tenha uma eficácia garantida e não apresente riscos à saúde humana ou ambiental.

## REFERÊNCIAS

- ABREU, K. C. L. M.: Epidemiologia da podridão vermelha do sisal no Estado da Bahia. **Repositório Institucional UFRB**, 2010.
- AINSWORTH, E. A.; GILLESPIE, K. M.: Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin–Ciocalteu reagent. **Nature protocols**, v. 2, n. 4, p. 875-877, 2007.
- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G.: Métodos em Fitopatologia. Viçosa. **Ed.UFV**, 2007. 382p
- ALMEIDA, T. S.; ROCHA, J. B. T.; RODRIGUES, F. F. G.; CAMPOS, A. R.; COSTA, J. G. M.: Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of *Croton campestris* essential oils. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 630-633, 2013.
- BABILI, F. E.; FABRE, N.; MOULIS, C.; FOURASTE, I.: Molluscicidal activity against *Bulinus truncatus* of *Croton campestris*. **Fitoterapia**, v. 77, n. 5, p. 384-387, 2006.
- BABILI, F. E., FOURASTE, I., MOULIS, C., BESSIERE, J. M., ROQUES, C., & HADDIOUI, L.: Essential oil of leaves of *Croton campestris* St. Hilaire, its secretory elements, and its biological activity. **Journal of Essential Oil Research**, v. 21, n. 3, p. 272-275, 2009.
- BATISTA, D. D. C.; SILVA, F. M.; SOUZA, W. C. O.; BARBOSA, M. A. G.; COSTA, V. D. O.; BRANDAO, W.; TERAQ, D.: Manejo da podridão vermelha do tronco do sisal. Circular técnica 92 – **EMBRAPA Semiárido**, 2010.
- Berg, J. M. T. e Lubert, J. (2008), Bioquímica. 6.Ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**, 545p.
- BRAAKSMA, M.; MARTENS-UZUNOVA, E. S.; PUNT, P. J.; SCHAAP, P. J.: An inventory of the *Aspergillus niger* secretome by combining in silico predictions with shotgun proteomics data. **BMC Genomics**, v. 11, n. 1, p. 1–11, 2010.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.
- CARMO, C. O.; TAVARES, P. F.; SILVA, R. M.; DAMASCENO, C. L.; SÁ, J. O.; SOARES, A. C. F.: Fatores que afetam a sobrevivência de *Aspergillus niger* e sua relação com a podridão vermelha do caule do sisal. **Magistra**, v. 29, n. 2, p. 144-153, 2017.
- COOK, R.J.; BAKER, K.F. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. St. Paul: **APS Press**, 1983. 539p.
- CRUZ, G. L.: Dicionário das plantas úteis do Brasil. 2ª ed. Rio de Janeiro: Ed. **EDEL**, 1982.

DAMASCENO, C. L.: Potencial de *Penicillium citrinum* para o controle de *Aspergillus niger*, agente causal da podridão vermelha do sisal. **Repositório UFRB**, 2012.

DUARTE, E. A.; DAMASCENO, C. L.; OLIVEIRA, T. A.; BARBOSA, L. D. O.; MARTINS, F. M.; QUEIROZ SILVA, J. R.; ... & SOARES, A. C.: Putting the mess in order: *Aspergillus welwitschiae* (and not *A. niger*) is the etiologic agent of the sisal bole rot disease. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, n. 1227, 2018.

JÚNIOR, F. E., MACEDO, G. E., ZEMOLIN, A. P., SILVA, G. F. D., CRUZ, L. C. D., BOLIGON, A. A., ... & POSSER, T.: Oxidant effects and toxicity of *Croton campestris* in *Drosophila melanogaster*. **Pharmaceutical biology**, v. 54, n. 12, p. 3068-3077, 2016.

JÚNIOR, F. E., DE OLIVEIRA, D. R., BOLIGON, A. A., ATHAYDE, M. L., KAMDEM, J. P., MACEDO, G. E., ... & POSSER, T.: Protective effects of *Croton campestris* A. St-Hill in different ulcer models in rodents: evidence for the involvement of nitric oxide and prostaglandins. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 153, n. 2, p. 469-477, 2014.

JUNIOR, F. E., MATIAS, E. F., OLIVEIRA, D. R., RAMOS, A. G., FERNANDES, C. N., SOUZA, H. H., ... & MENEZES, I. R.: Modulatory antibiotic activity and chemical composition of hydroalcoholic extract of *Croton campestris*. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 18, p. 4400-4404, 2011.

KOTOVICZ, V.; LEINECKER, R.; BARBOSA, M.; KRUGER, R.; MESOMO, M. C.: Avaliação da atividade antioxidante de extratos de casca de Banana Nanica obtidos por maceração. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 14, n. 2, p. 269-275, 2021.

LAVOR, A. K. L., MATIAS, E. F., ALVES, E. F., SANTOS, B. S., FIGUEREDO, F. G., LIMA, L. F., ... & COUTINHO, H. D.: Association between drugs and herbal products: In vitro enhancement of the antibiotic activity by fractions from leaves of *Croton campestris* A. (*Euphorbiaceae*). **European Journal of Integrative Medicine**, v. 6, n. 3, p. 301-306, 2014.

LI, J.; ZHANG, A.; LIU, Y.; ZHANG, Y.; GU, R.: Isolation, identification, and host range of *Aspergillus welwitschiae* causing postharvest rot on Chinese cabbage in China. **Canadian Journal of Plant Pathology**, p. 1-9, 2023.

LIMA, B. T. M.; JÚNIOR, F. P. A.; WILLAME, T.; ALVES, B.; MEDEIROS, F. D.: Potenciais Terapêuticos da *Croton campestris* (velame-do-campo): uma revisão. **CONIDIS – Anais de Eventos**, 2016.

MAGALHÃES, V. C.: Uso de isolados bacterianos no controle da podridão vermelha do sisal. **Repositório UFRB**, 2013.

MARTIN, A. R.; MARTINS, M. A.; MATTOSO, L. H.; SILVA, O. R.: Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade *Agave sisalana*. **Polímeros**, v. 19, p. 40-46, 2009.

MORAIS, Lilia Aparecida Salgado de.: Óleos essenciais no controle fitossanitário. Controle biológico de doença de plantas. Bettiol, W. y Morandi, MAB, eds. **Centro Nacional de Pesquisa de Defesa da Agricultura da Embrapa**, Brasília, DF. 337pp, 2009.

PEIXOTO, G. Q.: The death is red: analysis of the predicted secretome of *Aspergillus welwitschiae*, with emphasis in pathogenicity and carbohydrate metabolism. **Repositório UFMG**, 2019.

PEREIRA, R. J.; CARDOSO, M. G.: Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of biotechnology and biodiversity**, v. 3, n. 4, 2012.

PIZARRO, A. P. B.; OLIVEIRA FILHO, A. M.; PARENTE, J. P.; MELO, M. T.; SANTOS, C. E. D.; LIMA, P. R.: O aproveitamento do resíduo da indústria do sisal no controle de larvas de mosquitos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, p. 23-29, 1999.

SÁ, J. O.: Patogênese de *Aspergillus niger* e biocontrole da podridão vermelha do sisal por *Trichoderma spp.* **Repositório UFRB**, 2013.

SANTOS, J. D.; BRANCO, A.; SILVA, A. F.; PINHEIRO, C. S.; NETO, A. G.; UETANABARO, A. P.; ... & OSUNA, J. T.: Antimicrobial activity of *Agave sisalana*. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 22, 2009.

SANTOS, P., PRANDO, M., MORANDO, R., PEREIRA, G. V., & KRONKA, A.: Utilização de extratos vegetais em proteção de plantas. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, 2013.

SARTORI, V. C., MAGRINI, F. E., CRIPPA, L. B., MARCHETT, C., VENTURIN, L., & SILVA-RIBEIRO, R. T.: Avaliação in vitro de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 6, n. 2, p. 117-122, 2011.

SEPLAN - Inclusão Social. Bahia que faz: Densificação da base econômica e geração de emprego e renda. **Relatório de Atividades**. Governo do Estado da Bahia, 2006. Disponível em: [http://www.seplan.ba.gov.br/sgc/arquivos/20100302\\_152309\\_11\\_inclusao.pdf](http://www.seplan.ba.gov.br/sgc/arquivos/20100302_152309_11_inclusao.pdf). Acesso em: 19 jun.2023.

SILVA, C. M. A.: Metabólitos secundários de plantas do semi-árido de Pernambuco-uma inovação no controle de fitopatógenos. 2013. **Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco**.

SILVA, F. M.; ALENCAR, K.; NEVES BRANDÃO, W.; TERAPO, D.; CRUZ BATISTA, D.: Avaliação da Transmissão da Podridão Vermelha do Sisal Durante o Corte e Meios Químicos para Prevenção. **IV Jornada de Iniciação Científica**, 2009.

SILVA, F. P. M.: A problemática da produção do sisal em pequenas propriedades familiares: O caso de Conceição do Coité na Bahia. **Anais V SOBER Nordeste/XI Semana de Economia da URCA**. Crato, CE, 2010.

SILVA, O. R. R. F.; COUTINHO, W. M.; CARTAXO, W. V.; SOFIATTI, V.; SILVA FILHO, J. L.; CARVALHO, O. S.; COSTA, L. B.: Cultivo do sisal no Nordeste Brasileiro. Circular Técnica 123 – **EMBRAPA Semiárido**, 2008.

SOUZA, L. S. S.: Extratos aquosos de alho (*Allium sativum L.*) e sisal (*Agave sisalana Perrine*) no controle de *Aspergillus niger* e da podridão vermelha do sisal. **Cruz das Palmas, BA: Dissertação apresentada na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia**, 2010.

SOUZA, L. S. S.; SOARES, A. C. F.: Extrato aquoso de alho (*Allium sativum* L.) no controle de *Aspergillus niger* causador da podridão vermelha em sisal. **Tecnológica**, v. 17, n. 2, p. 124-128, 2013.

SOUZA, L. S. S.; SOARES, ACF. Extratos aquosos de alho (*Allium sativum* L.) e sisal (*Agave sisalana* Perrine) no controle de *Aspergillus niger* e da podridão vermelha do sisal. **Cruz das Palmas, BA: Dissertação apresentada na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia**, 2010.

VENTUROSOS, L. D. R., BACCHI, L. M. A., GAVASSONI, W. L., CONUS, L. A., PONTIM, B. C. A., & BERGAMIN, A. C.: Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. *Summa Phytopathologica*, 37, 18-23.