

Produtos naturais no controle de *Colletotrichum* sp. associado a pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.)

Natural products in the control of *Colletotrichum* sp. associated with sweet pepper (*Capsicum chinense* Jacq.)

Rosendo Galileo López Macedo

Universidade Federal do Amazonas

E-mail: galileolopezagro@gmail.com

OrcID: <https://orcid.org/0000-0002-3341-8564>

Jânia Lília da Silva Bentes

Universidade Federal do Amazonas

E-mail: jlbentes@ufam.edu.br

OrcID: <https://orcid.org/0000-0001-7302-5661>

Antônia Queiroz Lima Souza

Universidade Federal do Amazonas

E-mail: antoniagsouza@gmail.com

OrcID: <https://orcid.org/0000-0001-5602-8617>

Resumo: A pimenta-de-cheiro (*Capsicum chinense* Jacq.) é uma hortaliça muito consumida no Estado do Amazonas, cultivada principalmente por pequenos produtores. A expansão da cultura é fortemente afetada pela ocorrência da antracnose, doença causada pelo fungo *Colletotrichum* sp., sendo o principal problema fitossanitário na cultura na região, podendo alcançar 100% de incidência. O controle é feito por meio de práticas culturais e uso de fungicidas. Este trabalho teve como objetivo avaliar o potencial do extrato aquoso de três espécies vegetais, *Curcuma longa*, *Croton cajucara* e *Piper marginatum* no desenvolvimento de *Colletotrichum* sp. *in vitro*, e na redução da incidência da doença em frutos de pimenta-de-cheiro. Foram utilizados os extratos aquosos obtidos a frio e a quente de cada espécie vegetal, para avaliar o crescimento micelial e a produção de conídio em meio de cultura BDA. O efeito dos extratos na redução da incidência da doença foi avaliado em frutos destacados, pulverizados com os extratos antes e após a inoculação com o fitopatógeno. Não foi observado efeito dos extratos no crescimento micelial e na esporulação do fungo em meio de cultura. Em frutos destacados houve redução da incidência da doença, quando os extratos foram aplicados de forma preventiva, podendo ter potencial para uso como uma medida complementar para o manejo da doença.

Palavras-chave: Antracnose. Extrato vegetal. Manejo alternativo.

Abstract: The sweet pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) is a vegetable widely consumed in the State of Amazonas, cultivated mainly by small producers. The expansion of the culture is strongly affected by the occurrence of anthracnose, a disease caused by the fungi *Colletotrichum* sp., being the main phytosanitary problem of the crop in the region. The disease management is done by cultural practices and use of fungicides. The goal of this work was to evaluate the potential of aqueous extracts from three plant species, *Curcuma longa*, *Croton cajucara* and *Piper marginatum* on the *Colletotrichum* sp. development *in vitro* and on the reduction of anthracnose incidence on sweet pepper fruits. Cold and hot extract from each plant species were used to evaluate the mycelial development and conidia production on BDA culture media. The effect of the extracts on the disease incidence was evaluated on sweet pepper fruits, sprayed before and after inoculation with the phytopathogen. No effect was observed on mycelial development and fungi sporulation on culture media. There was a reduction of disease incidence on fruits, when the extract was sprayed as preventive treatment, and it may have use as complementary measure for disease management.

Keywords: Anthracnose. Alternative management. Plant extract.

Data de recebimento: 23/02/2021

1 Introdução

As pimentas (*Capsicum* spp.) estão entre as principais hortaliças cultivadas no mundo, podendo ser consumidas *in natura* ou processadas em forma de páprica, pastas, desidratadas, em conservas (Aguilar *et al.*, 2020). Segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação (FAO, 2019) o maior produtor de pimenta do gênero *Capsicum* no mundo é a China com uma produção de 12,656,804.92 t. No Brasil, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2017) a produção de pimentas foi de 46.702 t. sendo o estado do Pará o maior produtor com 18.048 t.

No Amazonas as pimentas de cheiro (*C. chinense* Jacq. 1777) são amplamente cultivadas devido a seu sabor pungente e aroma agradável proporcionados pelos capsaicinóides (Sganzerla, Coutinho, Melo, & Godoy, 2014), é fonte de renda para pequenos produtores possibilitando a continuidade da atividade agrícola e manutenção no campo evitando o êxodo rural (Berni & Cardoso, 2013). Segundo o último relatório da produção vegetal do Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável do Estado do Amazonas (IDAM, 2019) a estimativa de área plantada de pimenta-de-cheiro foi 1.397,21 ha e produção estimada foi de 6.546,08 t.

O cultivo de pimenta-de-cheiro pode ser atacado por diversos microrganismos causadores de doenças como, nematoides, bactérias e fungos, sendo a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum* spp., a principal doença da cultura no Amazonas, podendo levar a 100% de perdas na produção (Hanada, Gasparotto, Pereira, & Assis, 2011). A doença pode atacar todas as variedades comerciais existentes se não forem adotadas medidas de controle (Gasparotto, Pereira, & Berni, 2014). Os sintomas ocorrem em ramos e folhas sendo os frutos as partes mais afetadas por lesões inicialmente pequenas e escuras, circulares e deprimidas, que progridem formando círculos concêntricos e pontos negros que corresponde aos acérvulos do fungo de onde surge uma massa alaranjada constituída pelos conídios do fungo (Hanada *et al.*, 2011).

Diversas espécies de *Colletotrichum* são relatadas causando antracnose em pimentas como: *C. truncatum*, *C. gloeosporioides*, *C. fructicola*, *C. siamense*, *C. brevisporum*, *C. scovillei*, *C. sichuanensis* (Liu *et al.*, 2016; Ranathunge, Mongkolporn, Ford, & Taylor, 2012), *C. acutatum* (Suwor, Thummabenjenjapane, Sanitchon, Kumar, & Techawongstien, 2015), *C. coccodes*, (Sharma, Katoch, & Sharma, 2011) *C. dematium* (Shin, Xu, Zhang, & Cheng, 2000), *C. boninense* (Diao *et al.*, 2013) e *C. cliviae* (Saini, Gupta, & Anandalakshmi, 2017). No Amazonas três espécies foram descritas afetando a pimenta-de-cheiro: *C. siamense*, *C. scovillei*, (Oliveira, Matos, Albuquerque, Hanada, & Silva, 2017) e *C. brevisporum* (Almeida, Matos, Assis, & Hanada, 2017).

Para o controle da doença são recomendadas práticas culturais como o uso de sementes certificadas, plantio menos adensado, eliminação de restos de cultura, rotação de cultura com espécie de planta não hospedeira do fungo (Ali, Bordoh, Singh, Siddiqui, & Droby, 2016) além do controle químico com produtos registrados no Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2021), uma vez que não existem cultivares resistentes disponíveis. O uso consecutivo de produtos com o mesmo mecanismo de ação aliado ao uso indiscriminado de fungicidas oferece risco a saúde e danos ao ambiente além da seleção de variantes resistentes aos princípios ativos utilizados (Tyskiewicz *et al.*, 2019; Martinez, Gomez, Ramirez, Gil, & Durango, 2020).

Uma abordagem menos prejudicial para o controle de doenças em plantas de importância agrícola, é a adoção de extratos derivados de plantas que apresentam compostos quimicamente ativos contra fitopatógenos (Wang, Zhang, Sun, & Zhang, 2017). Estes compostos bioativos são derivados de metabolitos secundários produzido pelas plantas como alcaloides, fenóis, flavonóides e terpenóides, (Sun, Wang, Han, Zhang, & Feng, 2017). Diversos compostos bioativos tem sido isolados por métodos fitoquímicos ou bioquímico e testados para observar o efeito dos extratos sob condições controladas *in vitro* no desenvolvimento do patógeno, mostrando eficiência no controle, alterando o desenvolvimento patogênico totalmente ou em parte (Nazzaro, Fratianni, Coppola, & De Feo, 2017; Park *et al.*, 2017).

Experimentos em casa de vegetação ou em condições de campo, os extratos vegetais mostram a eficiência na redução da severidade da doença, seja pela ação do composto diretamente sob o patógeno ou como elicitador estimulando resistência induzida na planta (Ali, Pheng, & Mustafa, 2015; Meng, Li, Bi, Zhu, & Ma, 2015), resultando na redução dos sintomas de doenças ou em um fenótipo de resistência, sem o uso de agrotóxicos.

No Brasil existe uma diversidade de espécies vegetais com potencial de serem exploradas e utilizadas para o controle de fungos fitopatogênicos. As espécies de plantas como *Croton cajucara* Benth. *Piper marginatum* Jacq. e *Curcuma longa* Linn. são plantas exploradas na medicina tradicional no tratamento de doenças em humanos. A espécie *C. cajucara* é um arbusto nativo da floresta Amazônica pertencente à família *Euphorbiaceae*, popularmente conhecida como sacaca, e é utilizada na medicina tradicional através da ingestão oral da infusão ou cocção de suas folhas ou cascas, para tratamento de úlceras gástricas, distúrbios hepáticos, diabetes, febre e malária (Nascimento *et al.*, 2017, Azevedo *et al.*, 2014). Suas propriedades medicinais estão relacionadas a presença de terpenos como linalol e 7-hidroxicalameneno. Esta espécie também tem demonstrado efeito antimicrobiano, como relatado por Azevedo *et al.* (2016) onde o uso de 7-hidroxicalameneno em concentrações de 39,06, a 78,12 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, inibiu o crescimento das leveduras *Candida albicans*, *C. dubliniensis* e *C. parapsilosis* causadoras de infecções na corrente sanguínea em seres humanos.

A planta *P. marginatum*. pertence à família Piperaceae, é um arbusto aromático com pecíolo alado e as folhas em forma de coração, que são as duas principais características que facilitam a sua identificação. Encontra distribuída no Centro e Sul das Américas, e no Brasil é conhecido como pimenta de macaco e o extrato das folhas é utilizada para tratamento de doenças gastrointestinais, reumatismo e tumores, (Bru & Guzman, 2016;). Esta espécie tem sido relatada como potencial agente de biocontrole de fungos e bactérias fitopatogênicas. Araújo *et al.* (2014), usando o extrato metanólico de *P. marginatum*, observou a inibição de 82,4% do crescimento micelial e 81,2% do diâmetro da lesão em frutos de pimentão causado pelo fitopatógeno *Colletotrichum scovillei*.

A espécie *Cur. longa*, pertence à família Zingiberaceae, é uma erva perene originária das regiões tropicais da Ásia. O rizoma é o órgão mais utilizado da planta dando cor e sabor aos alimentos, e na medicina tradicional da Ásia para o tratamento de doenças gastrointestinais e hepáticas, doenças de pele, infecções e problemas ginecológicos (Pagano, Romano, Izzo, & Borrelli, 2018). As moléculas ativas mais abundantes da cúrcuma são os curcuminóides, compostos polifenólicos, que estão relacionados aos efeitos farmacológicos de interesse terapêutico. A C. Dorneles *et al.* (2018) observaram que o extrato de *Cur. longa* inibiu 60% do crescimento micelial e 83,34% da esporulação do *Bipolaris oryzae* causador da mancha-parda em plantas de arroz.

Em função do potencial já demonstrado no controle de microrganismos por estas espécies vegetal, o objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de extratos de *C. cajucara*, *P. marginatum* e *Cur. longa*, e no controle de *Colletotrichum sp. in vitro* e na redução da incidência da antracnose em frutos de pimenta-de-cheiro.

2 Material e Métodos

2.1 Coleta do material vegetal

Para a obtenção dos extratos vegetais, amostras de folhas de *C. cajucara*, *P. marginatum* e de rizomas de *Cur. longa*, foram coletadas no período da manhã, no setor sul da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), coordenadas geográficas -3.101623 Sul e -59.976167 Oeste, em sacos de papel, etiquetadas e transportadas ao laboratório de Fitopatologia onde foram lavadas em água corrente, colocadas para secar em temperatura ambiente ($\pm 26\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 24 h, seguida de secagem em estufa de ventilação forçada a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 h. Após a secagem o material foi triturado em moinho de quatro lâminas até a obtenção de um pó seco.

2.2 Obtenção dos extratos vegetais a frio e a quente

Para o preparo do extrato frio (EF), 50 g de cada material vegetal seco e triturado foi adicionado a 500 mL de água destilada esterilizada em erlenmeyer de 1 L, homogeneizado e deixado em repouso durante 48 h, em temperatura ambiente ($\pm 26\text{ }^{\circ}\text{C}$). Para o preparo do extrato quente (EQ), 50 g de cada material vegetal nas mesmas condições citadas anteriormente, foi homogeneizado em água destilada esterilizada à temperatura de $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, e deixado em repouso durante 2 h.

Após o período de repouso do EF e EQ, foi feita uma filtragem em camada dupla de gaze, e uma segunda filtragem em papel de filtro. Os extratos filtrados foram centrifugados em tubos Falcon de 50 mL a 5000 rpm durante 10 min e o sobrenadante foi submetido a esterilização por filtragem em membrana

Milipore® de 0,45 µm de porosidade. Os EF e EQ obtidos foram armazenados em congelador a temperatura de -18 °C.

2.3 Obtenção do isolado de *Colletotrichum* sp.

O isolado de *Colletotrichum* sp. foi obtido a partir de frutos de pimenta-de-cheiro apresentando sintomas típicos da antracnose, coletados em uma propriedade rural produtora, localizada no km 24 da Rodovia BR 174 em Manaus-AM. Os frutos foram depositados em sacos de papel, etiquetados e transportados para o laboratório, onde foi realizado o isolamento indireto do fitopatógeno em placas de petri contendo meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar) (KASVI). A identificação morfológica do fitopatógeno foi realizada pela observação de estruturas reprodutivas, em lâminas de microscopia contendo corante azul de algodão 1% em lactofenol, com auxílio de um microscópio ótico (Zeiss®) sob objetiva de 40X.

2.4 Efeito dos extratos sobre o crescimento micelial e produção de conídios de *Colletotrichum* sp.

Os efeitos dos EF e EQ de folhas de *C. cajucara*, *P. marginatum* e dos rizomas de *Cur. longa*, foram avaliados em dois experimentos separados, sendo um para o extrato frio (EF) e outro para extrato quente (EQ). Nestes foram quantificados o crescimento micelial e a produção de conídios do fungo em placas de petri de 60 mm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA (KASVI) acrescido dos EF e EQ das espécies vegetal, nas concentrações de 10%, 20% e 30%. No centro de cada placa foi depositado um disco de meio de cultura de 5 mm de diâmetro contendo a colônia do fungo *Colletotrichum* sp. As placas foram mantidas em câmara de crescimento (Tecnal), em temperatura de 27 °C

A avaliação do crescimento micelial foi realizado pela tomada das medidas diametralmente opostas da colônia a cada 24 h, com auxílio de um paquímetro digital (Carbografite), até que a colônia de um dos tratamentos alcançasse a borda da placa. Após finalizada avaliação do crescimento micelial, as mesmas placas contendo as colônias do fungo, foram usadas para a quantificação da produção conídios, a partir de uma suspensão de esporos obtida de cada placa. A quantificação da esporulação foi feita com auxílio de um hemacitômetro e observado em objetiva de 40X em microscópio ótico (Zeiss).

O ensaio experimental foi em delineamento inteiramente casualizado (DIC) com nove tratamentos, (três espécies vegetal e três concentrações de cada extrato vegetal), com cinco repetições, sendo cada unidade experimental uma placa de Petri. Como testemunha foram usadas placas contendo somente o meio de cultura BDA. Os dados da produção de conídios foram transformados a Log^{10} para análise de variância. Com os dados obtidos foi realizada a análise de variância (ANOVA), e com as medias foram realizado o teste de Tukey a 5% de probabilidade no Software R Studio Versão 4.0.2 (RStudio, 2020).

2.5 Efeito dos extratos vegetais frio (EF) na incidência da antracnose em frutos destacados de pimenta-de cheiro (*Capsicum chinense*)

Foram realizados dois experimentos separadamente visando avaliar o efeito preventivo e curativo dos extratos aquosos das folhas de *C. cajucara* e *P. marginatum* do rizoma de *Cur. longa* na incidência da antracnose em frutos destacados de pimenta-de-cheiro.

Frutos sadios e sem danos visíveis foram obtidos em propriedades rurais produtoras localizados na comunidade Boa Esperança (Rodovia BR 174 km 120, Presidente Figueiredo-AM, Brasil). Os frutos foram lavados em água corrente e desinfestados em álcool 70% por 5 min., hipoclorito de sódio por 2 min. seguido de três lavagens em água destilada autoclavada a 1 ATM por 20 min. e secos em papel toalha autoclavado nas mesmas condições citadas anteriormente. Após a assepsia, foram depositados três frutos em caixas plásticas tipo Gerbox®, previamente lavadas e desinfestadas com álcool 70% e em luz ultravioleta (UV) durante 20 min, e forradas com camada dupla de papel de filtro autoclavado e umedecido com 10 mL de água destilada autoclavada. Para avaliação do efeito preventivo, os extratos foram pulverizados sobre os frutos 48 h. antes da inoculação do fitopatógeno. Para avaliar o efeito curativo, os frutos foram inicialmente inoculados com o fitopatógeno e 48 h. após a inoculação foram aplicados os extratos separadamente. A inoculação foi realizada pela aplicação por aspersão de uma suspensão de conídios de *Colletotrichum* sp. na concentração de 10^5 conídios.mL⁻¹, na superfície dos frutos. Após a aplicação dos tratamentos, os frutos foram mantidos em Gerbox® tampados, em temperatura ambiente (± 26 °C) durante seis dias. A avaliação foi feita pela quantificação da incidência da doença, uma vez que uma única infecção inviabiliza a comercialização do

fruto, usando a fórmula: ID (%) = [(número de frutos doentes/número total de frutos avaliados) x 100] (Wheeler, 1969).

O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado com três tratamentos (extratos vegetais aquosos de três espécies) e quatro repetições, sendo a unidade experimental um Gerbox® contendo três frutos. Como testemunhas foram utilizados frutos pulverizados com água destilada autoclavada (controle -) e frutos inoculados com patógeno (controle +).

3 Resultados

Nos experimentos com os EF e EQ não houve diferença significativa do crescimento micelial e na produção dos conídios entre os tratamentos de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os EF e EQ de *Cur. longa* na concentração de 30% proporcionaram o menor crescimento das colônias, não diferindo estatisticamente da testemunha. A menor produção de conídios foi observada no tratamento com *Cur. longa* na concentração de 20% do EQ. (Tabela 1). As espécies de *C. cajucara*, *P. marginatum* e *Cur. longa* não tiveram efeito significativo sobre o desenvolvimento de *Colletotrichum* sp. quando os metabolitos das plantas foram extraídos com água nas duas condições experimentais.

Tabela 1. Efeito das diferentes concentrações do extrato frio (EF) e extrato quente (EQ), obtidos dos rizomas e folhas, de *Curcuma longa*, *Croton cajucara* e *Piper marginatum*, sobre o crescimento micelial e produção de conídios de *Colletotrichum* sp, *in vitro*.

Tratamentos	Concentração do extrato vegetal (%)	Diâmetro da colônia (mm)		Esporulação	
		Extrato	Extrato	Extrato	Extrato
<i>C. cajucara</i>	10	41,8 abc	40,0 a	4,5 ab	4,8 a
<i>C. cajucara</i>	20	44,0 abc	37,0 a	4,9 ab	4,1 bc
<i>C. cajucara</i>	30	41,4 abc	38,0 a	4,6 ab	3,9 c
<i>P. marginatum</i>	10	44,6 abc	44,3 a	4,8 a	4,6 ab
<i>P. marginatum</i>	20	40,5 abc	42,8 a	4,4 ab	4,2 abc
<i>P. marginatum</i>	30	39,7 bc	38,0 a	4,6 ab	4,0 bc
<i>Cur. longa</i>	10	42,2 abc	41,7 a	3,9 b	4,1 abc
<i>Cur. longa</i>	20	39,7 bc	37,9 a	4,3 ab	3,2 c
<i>Cur. longa</i>	30	37,9 c	37,3 a	4,3 ab	4,1 bc
BDA	0	42,6 abc	43,8 a	4,3 ab	3,2 abc
C.V%		9,51	9,65	7,89	15,47

Medias seguidas pela mesma letra minúsculas na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%. EF= Extrato Frio; EQ= Extrato Quente.

Os EF foram testados de forma curativa e preventiva em frutos destacados de pimenta-de-cheiro para avaliar o efeito sobre a incidência da antracnose. Frutos que receberam tratamento curativo com extratos de *Cur. longa* e *P. marginatum* a incidência da doença foi de 100%, e para *C. cajucara* foi 83,3%. Os frutos que receberam tratamento preventivo com os extratos de *Cur. longa*, *P. marginatum* e *C. cajucara* a incidência foi de 0%, 33,3% e 41,7% inferior ao do controle positivo respectivamente (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito curativo e preventivo dos extratos frios (EF) de *Curcuma longa*, *Croton cajucara* e *Piper marginatum* na incidência da antracnose em frutos destacados de pimenta-de-cheiro.

Tratamento	Incidência (%)	
	Curativo	Preventivo
Controle (-)	0	0
Controle (+)	100	100
<i>Cur. longa</i>	100	0
<i>P. marginatum</i>	100	33,3
<i>C. cajucara</i>	83,3	41,7

4 Discussão

O efeito não significativo dos EF e EQ no desenvolvimento *in vitro* do fitopatógeno pode estar relacionado com o método de extração utilizado. É possível que a extração dos metabólitos secundários de *Cur. longa*, *C. cajucara* e *P. marginatum*, somente com água não seja a forma mais eficiente para liberar os compostos com atividade antimicrobiana presentes nessas plantas, e que possivelmente estes metabólitos não tenham afinidade por solventes polares como a água.

Pesquisas mostram que algumas plantas têm seus metabólitos antimicrobianos extraídos com solventes polares, como a água, resultando em efeitos inibitórios no desenvolvimento de microrganismos patogênicos, no entanto, outras apresentam atividade inibitória dependente do solvente apolares ou de média polaridade utilizados na obtenção dos extratos e da concentração testada, (Mohsan, Ali, Shahbaz, Saeed, & Burhan, 2017; Ezeonu *et al.*, 2019). Métodos como destilação a vapor ou extração com solventes orgânicos são muito utilizados para extração de metabolitos ativos (Abidin, Hayyan, Hayyan, & Jayakumar, 2017; Favareto *et al.*, 2019), e que mostram respostas promissoras inibindo o desenvolvimento de fitopatógenos.

Trabalhos como os de Chen *et al.* (2018) relatam que o uso de etanol como solvente orgânico para extração dos metabólitos secundários de *Cur. longa*, inibiu o desenvolvimento micelial dos fungos *Fusarium graminearum* e *C. higginsianum* em 63,80% e 34,50% respectivamente utilizando a concentração de 0,5 mg.mL⁻¹. O mesmo efeito inibitório foi observado por Akter, Islam, Takara, Hossain, & Sano (2019) em *F. solani* inibindo o crescimento micelial em 80% na concentração de 128 µg.mL⁻¹.

A avaliação dos extratos de *C. cajucara*, *P. marginatum* e *Cur. longa* usando diferentes métodos e solventes orgânicos para a extração é necessária para verificar o efeito destes extratos no desenvolvimento do fitopatógeno *Colletotrichum* sp. agente causal da antracnose em pimenta-de-cheiro. Vale ressaltar que extratos aquosos e metanólicos, que são considerados polares, podem ter uma mistura maior de moléculas das plantas, devido a alta complexidade de metabólitos secundários produzidos por estas que outros extratos de média e baixa polaridade. Neste sentido novas estratégias de extração devem ser avaliadas.

O efeito curativo dos EF não teve influência na redução da incidência da doença em frutos de pimenta-de-cheiro, conforme observado no experimento em meio de cultura (Tabela 1). Quando os EF foram aplicados de forma preventiva houve redução da incidência da doença para todos os extratos testados. É possível que o uso preventivo dos extratos pode ter induzido resposta de defesa nos frutos ou inibido a germinação dos conídios.

Metabolitos naturais presentes nos extratos vegetais podem estimular a expressão de respostas defesa nas plantas (Conrath, 2011; Thomas & Hoorn, 2018), e indução de rotas metabólicas como a do ácido salicílico (SA), ácido jasmônico (JA) e etileno (ET) que ativam a cascata de sinalização que resulta na transcrição de genes de defesa ao ataque de patógenos (Beckers *et al.*, 2009; Balmer, Pastor, Gamir, Flors, & Mani, 2015).

Shabana *et al.*, (2017) relatam que o uso de nim (*Azadirachta indica* A. Juss.) aplicada de maneira preventiva diminuiu o número de pústulas de ferrugem em plantas de trigo em 86,30%, e os autores relacionaram este controle à indução de resistência. Franzener, Schwan-Estrada, Moura, Kuhn, & Stangarli (2018), avaliaram que o efeito de extrato aquoso de eucalipto (*Corymbia citriodora* (Hook.)) promoveu a indução a resistência em plantas de pepino contra a antracnose causada pelo patógeno *C. lagenarium*, devido à síntese de peroxidase (67,2%) e β-1,3-glucanase (122,7%) e fenilalanina amônia liase (PAL) (18,5%) que são enzimas relacionadas a indução de resistência em plantas. Draz, Elkhwaga, Elzaawely, El-Zahaby, & Ismail (2019), observaram que o uso de extratos aquoso de cinco espécies de plantas aplicados em plantas de trigo para o controle da ferrugem (*Puccinia triticina* Eriks) e as análises bioquímicas mostraram aumento do conteúdo de clorofila a e b, fenólicos totais e atividades de enzimas oxidativas em todos os tratamentos testados, estes resultados indicam que os extratos de plantas testados podem induzir resistência do trigo à ferrugem.

É possível que os extratos de *C. cajucara*, *P. marginatum* e *Cur. longa* possam estar relacionados com a ativação de respostas de defesa nos frutos da pimenta-de-cheiro, quando utilizados de maneira preventiva. Trabalhos futuros são necessários visando esclarecer o efeito destes extratos na indução de resistência, ativação de rotas bioquímicas e atividade enzimáticas em pimenta-de-cheiro *in vitro* e em campo, e garantir que o uso dos extratos de *C. cajucara*, *C. longa* e *P. marginatum* podem ser uma alternativa para o controle da antracnose no Amazonas.

5 Conclusão

Os extratos aquosos de *Cur. longa*, *C. cajucara* e *P. marginatum* não tem efeito sobre o desenvolvimento *in vitro* micelial e na produção de conídios de *Colletotrichum* sp., e não apresentaram efeito

curativo em frutos de pimenta-de-cheiro. O uso preventivo dos extratos resultou na redução da incidência da doença em 100%, (*Cur. Longa*) 66,7% (*P. marginatum*) e 58,3% (*C. cajucara*), podendo ser uma alternativa futura para o manejo integrado da antracnose no Amazonas.

Declaração de conflito de interesses

Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

Os autores agradecem o apoio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM pela concessão de bolsa ao primeiro autor. Esse trabalho teve apoio para pesquisa da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) Projeto nº 3287/13.

6 Referências

Abidin, M.H.Z., Hayyan, M., Hayyan, A., & Jayakumar, N.S. (2017). New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: A review. *Analytica Chimica Acta* 979, 1-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2017.05.012>

Akter, J., Islam, M.Z., Takara, K., Hossain, M.A., & Sano, A. (2019). Isolation and structural elucidation of antifungal compounds from Ryudai gold (*Curcuma longa*) against *Fusarium solani* sensu lato isolated from American manatee. *Comparative Biochemistry and Physiology* 219, 87-94. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.02.011>

Ali, A., Bordoh, P.K., Singh, A., Siddiqui, Y., & Droby, S. (2016). Post-harvest development of anthracnose in pepper (*Capsicum* spp): Etiology and management strategies. *Crop Protection* 90, 132-141. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cropro.2016.07.026>

Ali, A., Pheng, T.W., & Mustafa, M.A. (2015). Application of lemongrass oil in vapour phase for the effective control of anthracnose of 'Sekaki' papaya. *Journal of Applied Microbiology* 118, 1456-1464. <https://doi.org/10.1111/jam.12782>

Almeida, L.B., Matos, K.S., Assis, L.A.G., & Hanada, R.E. (2017). First report of anthracnose of *Capsicum chinense* in Brazil Caused by *Colletotrichum brevisporum*. *Plant Disease*, 101(6), 1035. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.09.032>

Araújo, E.R., Harand, W., Lima, I.C., Dias, F.C.R., Santana, A.A.D., & Carvalho, R.R.C.; (2014). Delson Laranjeira, D. Extratos de *Piper marginatum* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum scovillei* em pimentão. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, 49(2), 88-94. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2014000200002>

Azevedo, M.M.B., Almeida, C.A., Chaves, F.C.M., Rodrigues, I.A., Bizzo, H.R., Alviano, C.S., Alviano, D.S. (2016). 7-hydroxycalamenene Effects on Secreted Aspartic Proteases Activity and Biofilm Formation of *Candida* spp. *Phcog Mag* 12, 36-40. <http://dx.doi.org/10.4103/0973-1296.176022>

Azevedo, M.M.B., Almeida, C.A., Chaves, F.C.M., Takaki, G.M.C., Rozental, S., Bizzo, H.R., Alviano, C.S., & Alviano, D.S. (2014). Effects of 7-Hydroxycalamenene isolated from *Croton cajucara* essential oil on growth, lipid content and ultrastructural aspects of *Rhizopus oryzae*. *Plant medicinal* 80, 550-556.

Balmer, A., Pastor, V., Gamir, J., Flors, V., & Mani, B.M. (2015). The 'prime-ome': towards a holistic approach to priming. *Trends in Plant Science* 20, 443-452. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2015.04.002>

Beckers, G.J.M., Jaskiewicz, M., Liu, Y., Underwood, W.R., He, S.Y., Zhang, S., & Conrath, U. (2009). Mitogen-Activated Protein Kinases 3 and 6 Are Required for Full Priming of Stress Responses in *Arabidopsis thaliana*. *American Society of Plant Biologists* 21, 944-953. <http://www.plantcell.org/cgi/doi/10.1105/tpc.108.062158>

Berni, R.F., & Cardoso, M.O. *Custos peracionais na cultura de pimenta-de-cheiro e estimativa de renda familiar em várzea do Amazonas*. (Documentos 105/2013), Manaus, AM, Embrapa Amazônia Ocidental.

Brú, J., & Guzman, J.D. (2016). Folk medicine, phytochemistry and pharmacological application of *Piper marginatum*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26, 767-779. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bjp.2016.03.014>

- Chen, C., Long, L., Zhang, F., Chen, Q., Chen, C., Yu, X., Liu, Q., Bao, J., & Long, Z. (2018). Antifungal activity, main active components and mechanism of *Curcuma longa* extract against *Fusarium graminearum*. *Plos One*, 13(3), 1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194284>
- Conrath, U. (2011). Molecular aspects of defence priming. *Trends in Plant Science* 16, 524-531. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2011.06.004>
- Diao, Y.Z., Fan, J.R., Wang, Z.W., & Liu, X.L. (2013). First Report of *Colletotrichum boninense* Causing Anthracnose on Pepper in China. *Plant Disease*, 97(1), 138. <https://doi.org/10.1094/pdis-04-12-0403-pdn>
- Dorneles, K.R., Pazdiora, P.C., Silva, F.J.A., Moccellini, R., & Farias, C.R.J. (2018). Control of *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) using *Curcuma longa* (Linnaeus) Extract and effect of this extract on rice seed physiology. *Revista Caatinga*, Mossoró, 31(1), 99-105. <https://doi.org/10.1590/1983-21252018v31n112rc>
- Draz, I.S., Elkhwaga, A.A., Elzaawely, A.A., El-Zahaby, H.M., & Ismail, A.W.A. (2019). Application of plant extracts as inducers to challenge leaf rust of wheat. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29(6), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0109-9>
- Ezeonu, C.S., Tatab, V.S., Imo, C., Mamma, E., Mayel, M.H., Kukoyi, A.J., & Jeji, I.A. (2019). Inhibitory effect of aqueous and ethanolic extracts of neem parts on fungal rot disease of *Solanum tuberosum*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 22, 206-213. <https://doi.org/10.1155/2021/6696470>
- FAO, (2018). Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura. [Disponível em: www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize](http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC/visualize). Acesso em: 20 de junho de 2020.
- Favareto, R., Teixeira, M.B., Soares, F.A.L., Belisário, C.M., Cabral, J.F., Silva, E.A., Moia, T.A., & Cardozo-Filho, L. (2019). Extraction of bioactive compounds of leaves of *Duguetia furfuracea* (annonaceae) using green and organic solvents. *Brazilian Journal of Chemical Engineering* 36, 549-556. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190361s20170451>
- Franzener, G., Schwan-Estrada, K.R.F., Moura, G.S., Kuhn, O.J., & Stangarli, J.R. (2018). Induction of defense enzymes and control of anthracnose in cucumber by *Corymbiacitriodora* aqueous extract. *Summa Phytopathologica*, 44(1), 10-16. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/2218>
- Gasparotto, L., Pereira, J.C.R., & Berni, R.F. (2014). *A antracnose da pimenta-de-cheiro*. (Comunicado Técnico 104/2014), Manaus, AM, Embrapa Amazônia Ocidental
- Hanada, R.E., Gasparotto, L., Perira, J.C.R., & Assis, L.A.G. (2011, agosto) *Ocorrência de Colletotrichum sp. em pimenta de cheiro (Capsicum chinense) no Amazonas*. Suplemento apresentado no XLIV Congresso Brasileiro de Fitopatologia, Bento Gonçalves, RS, Brasil
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2017). Recuperado em 20 de janeiro, 2021 de www.sidra.ibge.gov.br/tabela/6619
- Instituto de Desenvolvimento Agropecuário e Florestal Sustentável Do Estado Do Amazonas (2019). Recuperado em 20 de janeiro, 2021 de <http://www.idam.am.gov.br/wp-content/uploads/2020/07/RAT-Produ%C3%A7%C3%A3o-Vegetal-4%C2%BA-Trim-2019.pdf>
- Liu, F., Tang, G., Zheng, X.; Li, Y., Sun, X., Qi, X., Zhou, Y., Xu, J., Chen, H., Chang, X., Zhang, S., & Gong, G. (2016). Molecular and phenotypic characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease in peppers from Sichuan Province, China. *Scientific Reports* 6, 32761. <https://doi.10.1038/srep32761>
- Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento. Recuperado em 20 de janeiro, 2021 de http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons
- Martinez, J., Gomez, A., Ramirez, C., Gil, J., & Durango, D. (2020). Controlling anthracnose by means of extracts, and their major constituents, from *Brosimum rubescens* Taub. *Biotechnology Reports* 25, e00405. <https://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00405>
- Meng, X., Li, J., Bi, F., Zhu, L., & Ma, Z. (2015). Antifungal Activities of Crude Extractum from *Camellia semiserrata* Chi (Nanshancha) Seed Cake Against *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides* and *Penicillium italicum* *in vitro* and *in vivo* Fruit Test. *Plant Pathology Journal* 31, 414-420. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.06.2015.0098>

- Mohsan, M., Ali, S., Shahbaz, M.U., Saeed, S., & BURHAN, M. (2017). *In vitro* efficacy of different growth media and crude plant extracts against mycelia growth of *Phytophthora capsici*. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 5, 43-47. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0283-9>
- Nascimento, A.M., Ferreirac, D.M., Souza, E.F.J., Souzaa, L.M., Sassaki, G.L., Iacomini, M., Werner, M.F.P., & Cipriani, T.R. (2017). Gastroprotective effect and chemical characterization of a polysaccharide fraction from leaves of *Croton cajucara*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95, 153–159. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.11.044>
- Nazzaro, F., Fratianni, I.F., Coppola, I.R., & De Feo, V. (2017). Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceuticals* 10, 86. <https://doi.org/10.3390/ph10040086>
- Oliveira, C.V.S., Matos, K.S., Albuquerque, D.M.C., Hanada, R.E., & Silva, G.F. (2017). Identification of *Colletotrichum* isolates from *Capsicum chinense* in Amazon. *Genetics and Molecular Research*, 16(2), 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01879-9>
- Pagano, E., Romano, B., Izzo, A.A., & Borrelli, F., (2018). The clinical efficacy of curcumin-containing nutraceuticals: An overview of systematic reviews. *Pharmacological Research*, 134, 79–91. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.06.007>
- Park, J.Y., Kim, S.H., Kim, N.H., Lee, S.W., Jeun, Y.C., & Hong, J.K. (2017). Differential Inhibitory Activities of Four Plant Essential Oils on *In Vitro* Growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* Causing Fusarium Wilt in Strawberry Plants. *Plant Pathology Journal* 33, 582-588. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.06.2017.0133>
- Ranathunge, N.P., Mongkolporn, O., Ford, R., & Taylor, P.W.J. (2012). *Colletotrichum truncatum* Pathosystem on *Capsicum* spp: infection, colonization and defence mechanisms. *Australasian Plant Pathology* 41, 463-473. <https://dx.doi.org/10.1007/s13313-012-0156-0>
- Equipe RStudio (2020). *Desenvolvimento integrado para R. RStudio*, (Versão 4.0.2). [Software estatístico] PBC, Boston, MA. Recuperado de <http://www.rstudio.com/>
- Saini, T.J., Gupta, S.G., & Anandalakshmi, R. (2017). Detection of chilli anthracnose caused by *Colletotrichum cliviae* in India. *Australasian Plant Disease Notes*, 12(33), 1-4. <https://doi.org/10.1007/s13314-017-0260-7>
- Sganzerla, M., Coutinho, J.P., Melo, A.M.T., & Godoy, H.T. (2014). Fast method for capsaicinoids analysis from *Capsicum chinense* fruits. *Food Research International* 64, 718-725. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.08.003>
- Shabana, Y.M., Abdalla, M.E., Shahinb, A.A., El-Sawy, M.M., Draz, I.S., & Youssif, A.W. (2017). Efficacy of plant extracts in controlling wheat leaf rust disease caused by *Puccinia triticina*. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences*, 4(1), 67-73. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejbas.2016.09.002>
- Sun, Y., Wang, Y., Han, L.R., Zhang, X., & Feng, J.T. (2017). Antifungal Activity and Action Mode of Cumenic Acid from the Seeds of *Cuminum cyminum* L. against *Fusarium oxysporum* f. sp. *Niveum* (FON) Causing *Fusarium* Wilt on Watermelon. *Molecules* 22, 2053. <https://dx.doi.org/10.3390/molecules22122053>
- Suwor, P., Thummabenjenjapane, P., Sanitchon, J., Kumar, S., & Techawongstien, S. (2015). Phenotypic and genotypic responses of chili (*Capsicum annum* L.) progressive lines with different resistant genes against anthracnose pathogen (*Colletotrichum* spp.). *European Journal of Plant Pathology* 143, 725-736. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0723-7>
- Thomas, E.L., & Hoorn, R.A.L. (2018). Ten Prominent Host Proteases in Plant-Pathogen Interactions. *International Journal of Molecular Sciences* 19, 639. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms19020639>
- Tyskiewicz, K., Tyskiewicz, R., Konkol, M., Rój, E., Scisiel, J.J., & Wozniak, K.S. (2019). Antifungal Properties of *Fucus vesiculosus* L. Supercritical Fluid Extract Against *Fusarium culmorum* and *Fusarium oxysporum*. *Molecules* 24, 3518. <https://dx.doi.org/10.3390/molecules22111914>
- Wang, Y., Zhang, J., Sun, Y., Feng, J., & Zhang, X. (2017). Evaluating the Potential Value of Natural Product Cuminic Acid against Plant Pathogenic Fungi in Cucumber. *Molecules* 22, 1914. <https://dx.doi.org/10.3390/molecules22111914>
- Wheeler, B.E.J.(1969). *An Introduction of Plant Diseases*. London, United Kingdom.