



**ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DOS
EXTRATOS DE PEQUI (*Caryocar brasiliense*
Camb.)**

MARIA CAROLINA SILVA MARQUES

2001

51749

MAN. 36513

MARIA CAROLINA SILVA MARQUES

ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DOS EXTRATOS DE PEQUI
(*Caryocar brasiliense*)



Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Agroquímica/Agrobioquímica, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Profa. Dra. Maria das Graças Cardoso



LAVRAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
AS GERAIS-BRASIL
2001

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Marques, Maria Carolina Silva

Estudo fitoquímico e biológico dos extratos de pequi (*Cariocar brasiliense*
Camb.). – Lavras : UFLA, 2001.

91p. : il.

Orientador: Maria das Graças Cardoso.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. *Cariocar brasiliense*. 2. Fitoquímica. 3. Fungitóxico. I. Universidade Federal
de Lavras. II. Título.

CDD-634.973166

MARIA CAROLINA SILVA MARQUES

ESTUDO FITOQUÍMICO E BIOLÓGICO DOS EXTRATOS DE PEQUI
(*Caryocar brasiliense* Camb.)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Agroquímica/Agrobioquímica, para obtenção do título de "Mestre".


APROVADA em 21 de fevereiro de 2001

Profa. Angelita Duarte Corrêa

UFLA

Prof. Paulo Estevão de Souza

UFLA


Profa. Dra. Maria das Graças Cardoso
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS-GERAIS - BRASIL

À minha querida Elô, que dispôs do seu tempo para me ensinar e a todos os colegas do Departamento de Fitopatologia, principalmente Marcos e Ana que receberam-me de braços abertos.

À Míriam, secretária da Pós-Graduação da Agroquímica/Agrobioquímica, pelas gentilezas e presteza.

Ao colega Paulo, do Departamento de Solos, que me indicou o local da coleta dos materiais de estudos e me auxiliou na busca dos mesmos.

Aos professores, técnicos e funcionários do Departamento de Química, pelo apoio no decorrer do curso, em especial à professora Celeste, pelo grande auxílio nas análises estatísticas.

Aos amigos da Biblioteca que, mesmo anônimos, sempre foram muito prestativos e aptos a nos auxiliar a qualquer momento.

À FIMES, permitindo-me cumprir com o curso e a todos os companheiros e amigos de trabalho que acreditaram nessa nova etapa, incentivando e auxiliando-me em todos os momentos.

Aos meus amigos de Mineiros-GO e demais familiares que, mesmo distantes, apoiaram e deram-me a força e a coragem para prosseguir.

À Profa. Ivanir, da FIMES, pela paciência e atenção nas correções das análises estatísticas.

À Comunidade do Cedro, em Mineiros-GO, pela sua simplicidade e onde tudo começou.

Ao Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras, pela possibilidade de desenvolver um curso de mestrado.

À CAPES e CNPq pela concessão de bolsas de estudos, permitindo que minha dedicação fosse total e exclusiva, para o desenvolvimento desse trabalho.

A todos que, direta ou indiretamente, me ajudaram a concluir mais um desafio em minha vida.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	ii
LISTA DE SÍMBOLOS.....	v
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 O bioma Cerrado	3
2.2 A Espécie <i>Caryocar brasiliense</i> Camb.....	5
2.2.1 Distribuição e ocorrência.....	5
2.2.2 Caracterização botânica.....	6
2.2.3 Utilização.....	6
2.2.4 Aspectos econômicos do pequi.....	10
2.2.5 Estudos químicos e fitoquímicos do pequi.....	11
2.3 Química dos produtos naturais.....	13
2.4 Fungicidas.....	16
2.4.1 Conceito e história.....	16
2.4.2 Extratos de plantas com atividades fungicidas.....	18
2.5 As espécies de fungos <i>Botrytis cineria</i> , <i>Colletotrichum truncatum</i> e <i>Fusarium oxysporum</i>	21
2.6 Fitoquímica.....	23
2.6.1 Metabolismo secundário.....	23
2.6.2 Estudo fitoquímico.....	25
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1 Estudo fitoquímico.....	28
3.1.1 Coleta do material vegetal.....	28
3.1.2 Preparação dos extratos.....	29
3.1.3 Testes fitoquímicos preliminares.....	30
3.1.4 Fracionamento dos extratos.....	31
3.1.5 Caracterização e identificação das substâncias.....	33
3.2 Extração de óleo essencial e identificação de seus componentes.....	33
3.3. Análise da atividade biológica.....	35
3.3.1 Teste de solubilidade dos extratos.....	35
3.3.2 Teste de fungitoxicidade dos solventes.....	35
3.3.3 Efeito dos extratos brutos sobre a germinação de esporos.....	36
3.3.4. Efeito dos extratos sobre crescimento micelial.....	37
3.3.5 Análise estatística.....	39
3.3.5.1 Extratos brutos etanólicos sobre a germinação de esporos.....	39
3.3.5.2 Extratos brutos metanólicos sobre a germinação de esporos.....	39
3.3.5.3 Extratos brutos sobre o crescimento micelial.....	40
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41

4.1 Estudo fitoquímico.....	41
4.1.1 Coleta do material vegetal.....	41
4.1.2 Obtenção dos extratos.....	42
4.1.3 Testes fitoquímicos preliminares.....	45
4.1.4 Fracionamento e caracterização do extrato.....	47
4.2 Obtenção e caracterização dos óleos essenciais.....	51
4.3 Atividade biológica.....	69
4.3.1 Teste de solubilidade dos extratos.....	69
4.3.2 Teste de fungitoxicidade dos solventes.....	70
4.3.3 Efeito dos extratos brutos sobre a germinação de esporos.....	72
4.3.3.1 Extratos etanólicos.....	72
4.3.3.2 Extratos metanólicos.....	74
4.3.4 Efeito dos extratos brutos sobre crescimento micelial.....	76
5 CONCLUSÕES.....	80
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81
ANEXOS A.....	89

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1: Relação entre os solventes e os tipos de substâncias preferencialmente extraídas..... 27
- TABELA 2: Rendimento dos extratos brutos da folha e botão floral do pequi. .43
- TABELA 3: Rendimento dos extratos brutos de três partes dos frutos de pequi. .44
- TABELA 4: Resultados dos testes fitoquímicos preliminares da folha e do botão floral do pequi.45
- TABELA 5: Substâncias majoritárias do óleo essencial do botão floral sugeridas pelo CG-EM.....54
- TABELA 6: Substâncias majoritárias do óleo essencial do mesocarpo interno sugeridas pelo CG-EM.....62
- TABELA 7: Solubilidade dos extratos hexânico (EH), clorofórmico (EC), em acetato de etila (EAE), etanólico (EE) e metanólico (EM) da folha (FL), botão floral (BF), do mesocarpo externo (ME) e do mesocarpo interno (MI) do fruto de pequi.69
- TABELA 8: Médias das porcentagens de germinação das espécies de fungos *Botrytis cineria* (Bc) e *Colletotrichum truncatum* (Ct) em função dos extratos brutos etanólicos da folha (EFL) e botão floral (EBF) e das concentrações C1 (testemunha), C2 (solvente metanol/água 1:1), C3 (extratos a 100 mg/L) e C4 (extratos a 500 mg/L).....73
- TABELA 9: Médias das porcentagens de germinação das espécies de fungos *Botrytis cineria* (Bc), *Colletotrichum truncatum* (Ct) e *Fusarium oxysporum* (Fo), em função dos extratos brutos metanólicos da folha (MFL), do botão floral (MBF), do mesocarpo externo (MME), do mesocarpo interno (MMI) e das concentrações C1 (testemunha), C2 (solvente metanol/água 1:1), C3 (extratos a 100 mg/L) e C4 (extratos a 500 mg/L).75

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Árvore do pequi, situada no município de Itumirim-MG: A - Folhas e flores; B - Botão floral; C - Frutos.	7
FIGURA 2: Corte longitudinal do fruto de <i>Caryocar brasiliense</i> : ME - mesocarpo externo; MI - mesocarpo interno, EE - endocarpo espinhoso e A - amêndoa.....	8
FIGURA 3: Esquema de extração para a obtenção dos extratos brutos de pequi.	30
FIGURA 4: Esquema de separação e purificação do extrato bruto metanólico do mesocarpo externo do pequi.....	32
FIGURA 5: Representação esquemática do equipamento adaptado para extração de óleo essencial pelo sistema por arraste a vapor - Laboratório de Química Orgânica - Departamento de Química - UFLA.	34
FIGURA 6: Espectro de infravermelho da amostra D ₆	49
FIGURA 7: Espectro de infravermelho da amostra D ₈	49
FIGURA 8: Espectro de infravermelho da substância D ₉	50
FIGURA 9: Espectro de infravermelho do óleo essencial do botão floral do pequi.	52
FIGURA 10: Cromatograma do óleo essencial do botão floral do pequi.	53
FIGURA 11: Estrutura do eudesmol.	55
FIGURA 12: Estruturas do beta-elemene (I) e trans-cariofileno (II).	55
FIGURA 13: Estrutura do ácido-2-metil, 3-hidroxi-propanóico.	56
FIGURA 14: Espectro de massa do pico Rt = 21,95.....	56
FIGURA 15: Estruturas do cis-farnesol (I) e 5,10-(Z,E)-pentacadien-1-ol (II).	57
FIGURA 16: Espectro de massa do pico Rt = 18,81.....	58

FIGURA 17:	Estruturas da 2-cicloexen-1-ona, 3-metil, o-m (I); 2-(3-bromopropil)-cicloexanona (II) e spiro [4,5]decan-6-ona (III).	59
FIGURA 18:	Espectro de massa do pico Rt = 24,04.....	59
FIGURA 19:	Rearranjo da cicloexanona.....	60
FIGURA 20:	Cromatograma do óleo essencial do mesocarpo interno do fruto de pequi.....	61
FIGURA 21:	Estrutura do ácido hexanóico.....	63
FIGURA 22:	Espectro de massa do pico Rt = 12,60.....	63
FIGURA 23:	Rearranjo de McLafferty.....	63
FIGURA 24:	Pontos de quebra da ligação C - C de ácidos carboxílicos de cadeia longa.....	64
FIGURA 25:	Espectro de massa do pico Rt = 27,74.....	65
FIGURA 26:	Estrutura da 2-cicloexen-1-ona, 3,5,5-trimetil (PM = 138).	66
FIGURA 27:	Clivagem da ligação adjacente ao grupo C = O da cicloexanona.....	66
FIGURA 28:	Outras quebras possíveis da cicloexanona.....	66
FIGURA 29:	Espectro de massa do pico Rt = 15,92.....	67
FIGURA 30:	Estruturas da 5-octen-4-ona, 7-metil (I) e 1H-pirrol-2,5-diona (II).....	68
FIGURA 31:	Espectro de massa do pico Rt = 18,4.....	68
FIGURA 32:	Efeito dos extratos etanólicos da folha (EFL) e do botão floral (EBF) em função da concentração C1 (testemunha), C2 (solvente metanol/água 1:1), C3 (extratos a 100 mg/L) e C4 (extratos a 500 mg/L).....	74

FIGURA 33: Efeito dos extratos metanólicos do botão floral (MBF), da folha (MFL), do mesocarpo externo (MME) e do mesocarpo interno (MMI) do fruto de pequi em função da concentração (C1 - testemunha, C2 - solvente metanol/água 1:1, C3 - extratos a 100 mg/L e C4 - extratos a 500 mg/L)..... 78

LISTA DE SÍMBOLOS

An, Bn, Cn e Dn	Frações obtidas na segunda CLC, advindas das frações A, B, C e D, respectivamente, na ordem n de eluição
Bc	<i>Botrytis cineria</i> (fungo)
BDA	Batata-dextrose ágar (meio de cultura)
CCD	Cromatografia de camada delgada
CLC	Cromatografia líquida de coluna
CG-EM	Cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa
Ct	<i>Colletotrichum truncatum</i> (fungo)
CV	Coefficiente de variação
Dest.	Destilada
DMSO	Dimetilsulfóxido (solvente)
EBF	Extrato etanólico do botão floral
EFL	Extrato etanólico da folha
EME	Extrato etanólico do mesocarpo externo do fruto
EMI	Extrato etanólico do mesocarpo interno do fruto
Fo	<i>Fusarium oxysporum</i> (fungo)
IV	Espectrometria de infravermelho
MBF	Extrato metanólico do botão floral
MFL	Extrato metanólico da folha
MME	Extrato metanólico do mesocarpo externo do fruto
MMI	Extrato metanólico do mesocarpo interno do fruto

PCA	Potato-carrot ágar (meio de cultura)
PDA	Potato-dextrose ágar (meio de cultura)
PM	Peso molecular
Rf	Fator de retenção (CCD)
Rt	Tempo de retenção (CG-EM)
SNA	Synthetic nutriente-poor agar (meio de cultura)
Tn	Tratamento de identificação "n"

RESUMO

MARQUES, Maria Carolina Silva. **Estudo fitoquímico dos extratos de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. Lavras: UFLA, 2001. 91p. (Dissertação - Mestrado em Agroquímica/Agrobioquímica)*

O pequi é uma planta típica do bioma Cerrado, o qual encontra-se em franca devastação. Popularmente, a espécie *Caryocar brasiliense* Camb. possui muitos potenciais de utilização como madeireiro, tintorial, melífero, medicinal e outros. Entretanto, poucas pesquisas foram realizadas com o pequi, principalmente em relação aos aspectos químicos e biológicos. Uma análise fitoquímica de várias partes da planta foi realizada e avaliou-se a atividade fungitóxica de seus extratos sobre fungos fitopatogênicos, das espécies *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*. O material vegetal foi coletado de uma população de pequis nativos do município de Itumirim-MG e a obtenção dos extratos brutos da folha, botão floral, mesocarpo externo, mesocarpo interno e amêndoa do fruto foi realizada por meio de sucessivas extrações com solventes de polaridade crescente. O extrato metanólico do mesocarpo externo foi submetido ao fracionamento, isolamento e purificação de substâncias pelos métodos cromatográficos usuais. Como parte do estudo fitoquímico, realizou-se uma análise fitoquímica preliminar da folha e botão floral, bem como a obtenção de óleo essencial do botão floral e do mesocarpo interno do fruto, pela técnica de arraste a vapor, cuja caracterização química foi feita por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa. Para os biotestes, os extratos etanólicos da folha e botão floral e os extratos metanólicos da folha, botão floral, mesocarpo externo e mesocarpo interno do fruto de pequi, nas concentrações de 100 e 500 mg/L, foram avaliados pelo método bioanalítico *in vitro* sobre a germinação de esporos das espécies dos referidos fungos. Desses, também foram analisados os efeitos sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum truncatum*, pelo método bioanalítico *in vitro* na concentração de 500 mg/L. Os resultados preliminares das análises fitoquímicas da folha e do botão floral apresentaram açúcares redutores, taninos, flavonóides, esteróides, triterpenóides e saponinas. No mesocarpo externo identificou-se uma substância altamente polar, de ponto de decomposição $45 \pm 2^\circ\text{C}$, indicando ser um açúcar. No óleo essencial do botão floral, que apresentou teor de 0,06%, detectou-se eudesmol (39,18%), ácido 2-metil, 3-hidroxipropanóico (4,35%), 2-(3-

* Comitê Orientador: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Orientador), Manuel Losada Gavilanes - UFLA; Paulo Estevão de Souza - UFLA (Co-orientadores).

bromopropil)cicloexanona (2,48%) e *cis*-farnesol (3,98%). Entretanto, no óleo essencial do mesocarpo interno do fruto, cujo teor foi de 0,09%, foram identificados os seguintes compostos: ácido hexanóico (18,44%), β -elemene (7,53%), octanoato de etila (3,72%) e 1,8-cineol (2,48%). Os extratos de pequi não apresentaram atividade fungitóxica sobre os fungos fitopatogênicos *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*.

ABSTRACT

MARQUES, Maria Carolina Silva. **Phytochemical and biological study of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) extracts.** Lavras: UFLA, 2001. 91p. (Masters Dissertation in Agrochemistry/Agrobiocchemistry)*

The pequi is a plant typical of the cerrado biome which is in evident devastation. Popularly, the specie *Caryocar brasiliense* Camb. possesses many potential uses as a source of lumber, paint, honey, medicine and others. However, little research has been carried out on the pequi, especially with respect to the phytochemistry and biology aspects. A phytochemical analysis of several parts of the plant and evaluation of the fungitoxic activity of its extracts upon phytopathogenic fungi of the species *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* and *Fusarium oxysporum* were performed. The plant material of a population of native pequi trees of the town of Itumirim, MG, was collected, and the leaf, floral bud, external mesocarp, internal mesocarp and kernel of the fruit were extracted successively with solvents of increasing polarity. The methanolic extract of the external mesocarp was submitted to fractionation, isolation and purification by the usual chromatographic methods. As a part of the phytochemical study, a previous phytochemical analysis of the leaf and floral bud was performed. In addition, the essential oil of the floral bud and of the internal mesocarp of the fruit was isolated by the technique of the steam distillation. The chemical characterization was performed by gas chromatography coupled with mass spectrophotometry. The ethanolic extracts of the leaf and floral bud and the methanolic extracts of the leaf, floral bud, external mesocarp and internal mesocarp of the pequi fruit at the concentrations of 100 and 500 mg/L were evaluated by the *in vitro* bioanalytical method which determines the effect on the germination of spores of the above-cited species of fungi. The effects on the mycelial growth of *Colletotrichum truncatum* were determined by the *in vitro* bioanalytical method at the concentration of 500 mg/L. Previous results of the phytochemical analyses of the leaf and floral bud presented reducing sugars, tanins, flavonoids, steroids, triterpenoids and saponins. A highly polar substance of decomposition point $45 \pm 2^\circ\text{C}$ was identified in the external mesocarp as probably being a sugar. In the essential oil of the floral bud, which presented a content of 0.06%, eudesmol (39.18%), 2-methyl-3-hydroxypropanoic acid (4.35%), 2-(3-bromopropyl)cyclohexanone

* Guidance Committee: Maria das Graças Cardoso - UFLA (Major Professor), Manuel Losada Gavilanes - UFLA; Paulo Estevão de Souza - UFLA (Co-advisers).

(2.48%) and *cis*-farnesol (3.98%), were detected. In the essential oil of the internal mesocarp of the fruit, the content of which was of 0.09%, the following compounds were identified: hexanoic acid (18.44%), β -elemene (7.53), ethyl octanoate (3.72%) and 1.8-cineole (2.48%). The pequi extracts did not present any fungitoxic activity against the phytopathogenic fungi *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* and *Fusarium oxysporum*.

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado é um dos mais importantes biomas do país, ocupando 22% do território nacional. Possui muitos tipos fisionômicos de vegetação, conferindo-lhe uma alta biodiversidade. No entanto, é nessa área que se encontram, atualmente, os maiores produtores de grãos e pecuaristas do país. Devido a esse apelo econômico, boa parte da vegetação nativa foi derrubada, existindo, hoje, poucas unidades de conservação.

Dentre as espécies típicas do Cerrado, a *Caryocar brasiliense* Camb. ou, popularmente, o pequi, é uma das que têm ampla utilização pela população local, sendo considerado por muitos como o rei do Cerrado, devido ao seu valor alimentício, medicinal, melífero, ornamental, oleaginoso e tanífero. Mesmo assim, poucos estudos sobre o pequi têm sido realizados, principalmente quanto aos aspectos fitoquímicos e biológicos.

Os organismos vivos têm nos mostrado, ao longo dos anos, que possuem um repertório químico com uma diversidade estrutural e potencialidade biológica extremamente grandes. O estudo fitoquímico dos produtos naturais com certeza fornecerá subsídios úteis para o progresso científico das nações, contribuindo para a conservação da vida. Prova disso é o grande interesse das indústrias farmacêuticas pelo potencial químico dos organismos vivos, pois estes podem ser fontes de fármacos (taxol e efedrina), agroquímicos (rotenona) e produtos destinados a dar sabor de alimentos (mentol, ácido benzóico), cor e perfume (cânfora, cumarina, linalol).

Portanto, ao determinar os constituintes químicos dos produtos naturais, pode-se estar encontrando substâncias que já possuem ampla utilização nos diversos setores da sociedade ou compostos inéditos que poderão ser úteis para

os inúmeros problemas ainda existentes ou para aqueles que poderão surgir no futuro.

Quanto aos estudos biológicos, estes são realizados com os mais variados intuitos. Entre eles, o estudo das ações das plantas contra os microorganismos vem se destacando em vista das necessidades de hoje. Sabe-se que, com o aumento da população humana, há também aumento de demanda por alimentos, o que leva ao aumento do cultivo para a produção agrícola. Conseqüentemente, o monocultivo em grandes áreas favorece as doenças, que comprometem o rendimento das culturas. Esse fato levou ao uso crescente dos agrotóxicos, causando contaminação dos trabalhadores rurais e do agroecossistema, bem como no aumento significativo dos custos de produção das lavouras. Devido aos riscos na utilização desses produtos, tem-se observado uma crescente busca de alternativas de controle que se mostrem eficazes, mas que sejam pouco ou não tóxicas ao homem e espécies benéficas e que não resultem em resíduos tóxicos nos alimentos e no ambiente.

Entre os métodos alternativos de controle, merece destaque a utilização de produtos naturais, pelos aspectos de segurança e conservação do equilíbrio do agroecossistema. As plantas produzem substâncias, muitas consideradas como metabólitos secundários, às quais são vistas como uma defesa do vegetal aos seus agressores naturais, possibilitando que muitos desses compostos possam ter ações praguicidas.

Em vista do exposto, fez-se o estudo fitoquímico dos extratos de diferentes partes do pequi, bem como verificou-se o efeito desses extratos sobre o crescimento de fungos fitopatogênicos. Neste trabalho, buscou-se conhecer melhor as características químicas e biológicas dessa espécie, pretendendo-se mostrar a importância do bioma Cerrado, conscientizando a população e autoridades para a busca do desenvolvimento sustentável dessa região.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O bioma Cerrado

✕ O Cerrado ocupa cerca de 1/4 do território brasileiro e distribui-se, principalmente, na região centro-oeste, fazendo fronteira com outros tipos de vegetação, ou mesmo, penetrando neles, existindo ali, na forma de pequenas manchas. Este bioma, sozinho, detém 1/3 das espécies brasileiras, o que significa algo em torno de 320.000 espécies de vírus, bactérias, fungos, algas, plantas inferiores, plantas com flores e animais (Ramos, 1997).

Essa riqueza deve-se ao fato de o Cerrado apresentar-se como uma região heterogênea na vegetação, com variados tipos fisionômicos (campos limpos, campos sujos, cerradão, cerrado senso restrito e outros), diferentes tipos de solos, clima, relevo e altitude. De modo geral, seus solos são considerados ácidos, com baixa fertilidade, baixa concentração de matéria orgânica e nutrientes (Adámoli et al., 1986; Veloso, Lourenço Filho e Lima, 1991; Pires, 1999). A região apresenta clima tropical, com uma estação seca e fria e outra chuvosa e quente. A fauna constitui-se de um baixo endemismo de vertebrados; porém, uma alta concentração de invertebrados (Chévez Pozzo, 1997; Correia, 1999).

O Cerrado é considerado como a "cumeeira do Brasil" e também da América do Sul, pois distribui uma significativa quantidade de água, que vai formar as principais bacias do continente: Amazônica, do São Francisco, do Prata, do Jequitinhonha, do Parnaíba e outras (Pimentel, Christofidis e Pereira, 1977).

De acordo com Pires (1999), desde o período colonial, o homem vem ocupando as regiões do Cerrado. Primeiramente, vindo em busca de metais

preciosos e escravos, depois, com o desenvolvimento de atividades como o extrativismo, pecuária e agricultura de pequeno porte. Após a 2ª Guerra Mundial, a região central do Brasil passou a ter ações governamentais e privadas que visavam à sua ocupação e desenvolvimento. Nas décadas de 1970 e 80, as políticas de incentivo à ocupação agrícola e demográfica e o avanço tecnológico criaram condições para que as terras das regiões do Cerrado, consideradas improdutivas e, por isso, extremamente baratas, se tornassem uma área de grande produção agrícola, permitindo o rápido e intenso processo de ocupação.

> Estes fatores tiveram como resultado o fato de o Cerrado ser hoje uma das regiões de maior produção agrícola e pecuária do país. Esta região alcançou a década de 1990 com seis produtos agrícolas de maior importância: soja, milho, arroz, feijão, café e mandioca. A soja e o milho responderam por 25,4% e 16% da produção total do país, em 1990, respectivamente. O rebanho bovino, entre 1970 e 1985, transpôs de 16,6 a quase 38 milhões de cabeças, equivalente a um incremento de 21,4 milhões de cabeças. Conjuntamente, a densidade demográfica do cerrado evoluiu de 4,2 habitantes por km², em 1970 para 8,2 habitantes por km², em 1991. Este incremento ocorreu, principalmente, devido aos processos de urbanização em andamento na região (Alho e Martins, 1995).

Todo esse crescimento, no entanto, trouxe também muita degradação ao meio ambiente. Para Novaes (1993), o manejo inadequado dos solos tem acarretado uma série de conseqüências. A erosão e a compactação constituem as principais formas de degradação dos solos do Cerrado; perdem-se mais de 50 toneladas/ano/hectare de terra, em conseqüência da erosão. A contaminação das fontes de água pelo uso intensivo de agrotóxicos também ocupa um lugar relevante.

2.2 A Espécie *Caryocar brasiliense* Camb.

2.2.1 Distribuição e ocorrência

↳ O pequi é uma planta arbórea da família Caryocaraceae, gênero *Caryocar* L., abrangendo cerca de vinte espécies. No Brasil, ocorrem pelo menos oito espécies desse gênero, a maioria de porte alto e compondo a vegetação da floresta amazônica. Duas espécies são importantes fora dos limites da floresta tropical úmida da Amazônia: *C. coriaceum* Wittm., encontrada nos campos do Nordeste e a *C. brasiliense* Camb., encontrada entre as espécies, de maior incidência no Brasil Central, constituindo-se inclusive como típica da paisagem dos cerrados. Etimologicamente, piqui, piquiá ou pequi, origina-se do tupi (py - casca, qui - espinho), significando casca espinhosa, possivelmente devido ao caroço do fruto ser revestido por finos espinhos (Brasil, 1985).

↳ De acordo com Almeida et al. (1998), a espécie *Caryocar brasiliense* ocorre no cerradão distrófico e mesotrófico, cerrado denso, cerrado senso restrito e cerrado ralo. Distribui-se por Bahia, Ceará, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Piauí, Rio de Janeiro, São Paulo e Tocantins.

A árvore é protegida por lei (Portaria nº 54, de 05/03/87 - IBDF - Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal) que impede seu corte e comercialização em todo o território nacional. No entanto, a intensa utilização e várias outras razões vêm contribuindo para a diminuição desta espécie, como: crença popular de que as sementes não germinam, ataques dos frutos por insetos e animais selvagens, falta de proteção florestal à espécie e as árvores velhas nem sempre brotam quando abatidas, sendo sensíveis ao fogo (Brandão, Carvalho e Jesué, 1992).

2.2.2 Caracterização botânica

A árvore é hermafrodita, de até 7 m, velutino-pubescente, salvo as flores e os frutos (Figura 1). As folhas são opostas, compostas trifolioladas, longo pecioladas com estípulas caducas deixando cicatriz interpeciolar; limbo oval, elíptico ou largamente oblongo, base aguda e obtusa no folíolo central e desigual nos folíolos laterais; margem crenada; nervação sulcada na face ventral e saliente na face dorsal; pecíolo com 3 a 13,5 cm de comprimento. A inflorescência é um racemo terminal curto com 10 a 30 flores. Estas são actinomorfas, longo-pediceladas, cujas sépalas são em número de cinco, livres, verde-avermelhadas e arredondadas; a corola é de cor amarela-clara; as pétalas são também em número de cinco, livres, elípticas com estames numerosos em duas a três séries, possuem quatro estiletos e ovário de quatro lojas.

✧ O fruto é do tipo drupóide (Figura 2), verde, depresso-globoso e possui de 1 a 4 pirênios; possui um mesocarpo que se subdivide no mesocarpo externo que é coriáceo-carnoso e o mesocarpo interno que é amarelo-claro, carnoso, rico em óleo, vitaminas e proteínas, envolvendo o endocarpo lenhoso, espinhoso e amêndoa branca. Sua floração ocorre de agosto a novembro, coincidindo com o período das chuvas e a frutificação, de novembro a fevereiro (Almeida et al., 1998).

2.2.3 Utilização

O pequi é uma espécie que tem ampla utilização pelos sertanejos do Cerrado e todas as suas partes têm um emprego específico. Pelos estudos de Heringer (1962), sua madeira tem sido utilizada para a fabricação de dormentes,

postes, moirões e esteios de curral, por ser resistente à umidade e aos detritos de currais. Pode ser também uma madeira de uso para a fabricação de móveis e na xilografia, principalmente na construção civil e naval.

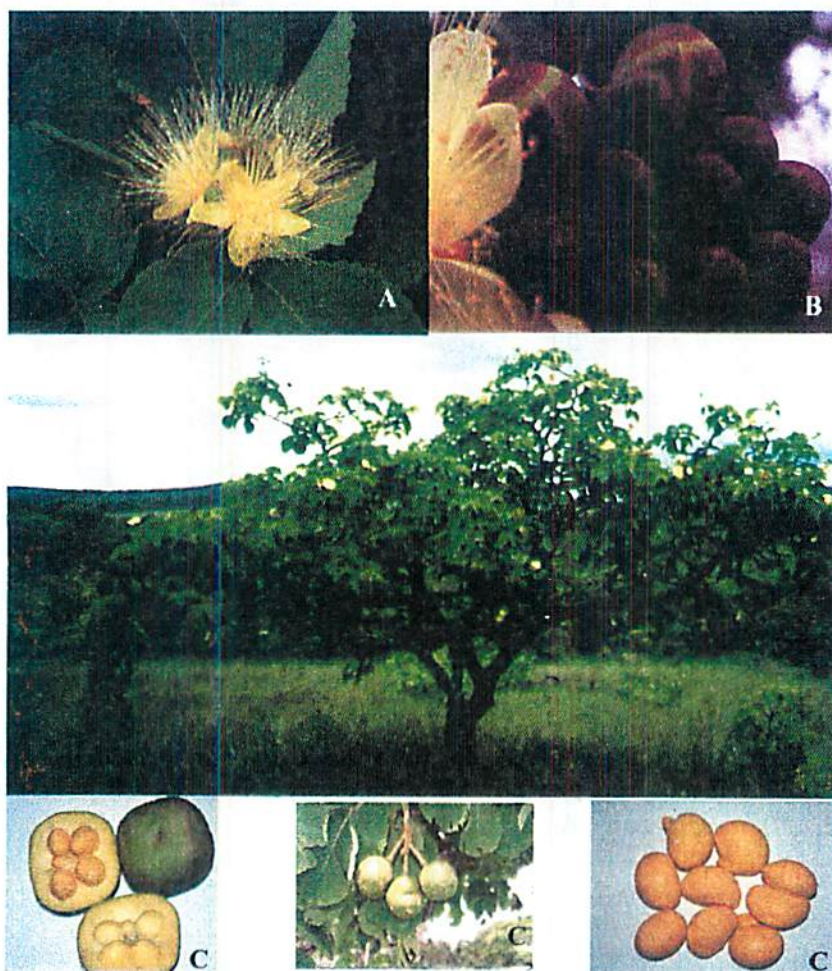


FIGURA 1: Árvore do pequi, situada no município de Itumirim-MG: A - Folhas e flores; B - Botão floral; C - Frutos.

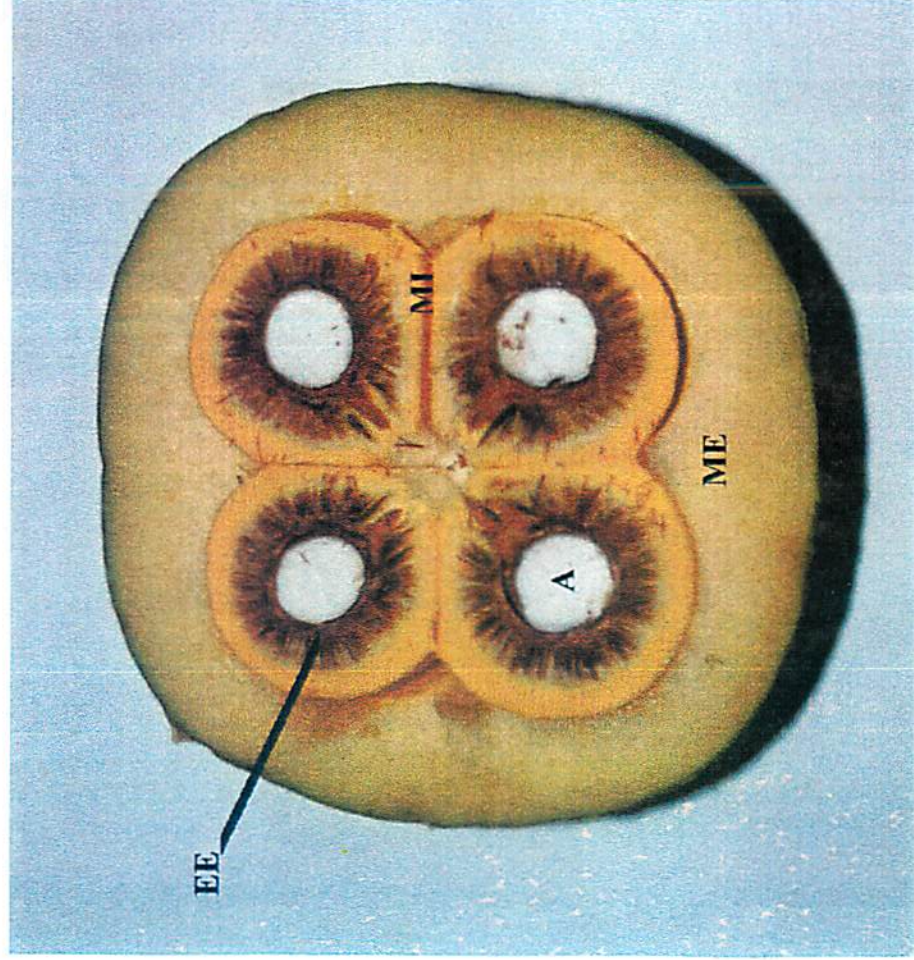


FIGURA 2: Corte longitudinal do fruto de *Caryocar brasiliense*: ME - mesocarpo externo; MI - mesocarpo interno, EE - endocarpo espinhoso e A - amêndoa.

Na casca e nas folhas foram encontrados altos teores de taninos, o que vem possibilitando seu uso em tingimento artesanal de algodão, lã, paíha e até couro, por meio de corantes amarelos de ótima qualidade que podem ser

utilizados também como matéria-prima de tinta, inclusive de escrever (Brasil, 1985; Silva Filho, 1992).

O pequi já foi utilizado popularmente para pescar. Sua raiz é tida como tóxica e tonteia os peixes ao ser colocada, moída, dentro da lagoa, facilitando a interceptação dos mesmos (Azevedo, 1987).

Conforme os estudos de Almeida et al. (1998), o pequizeiro é tido como árvore ornamental devido ao seu porte e à beleza das flores, que atraem diversos tipos de abelhas, por isso considerada como árvore melífera. A espécie pode ser também, segundo Macedo (1992), uma árvore oleaginosa, com fins alimentares e industriais.

✧ Na indústria cosmética, o pequi é utilizado na fabricação de cremes para a pele e sabonetes. Silva (1994), procurando estudar as propriedades cosméticas do óleo do fruto da planta, considerou que, além dos fatores que são comuns aos óleos vegetais, o óleo de pequi é rico em ácido oléico, um componente natural da emulsão epicutânea e betacaroteno (pró-vitamina A), os quais têm funções de absorver radiação ultravioleta e estão associados a anti-radicais livres.

✧ Medicinalmente, o pequi tem várias potencialidades. O chá das folhas, que são consideradas adstringentes, é usado como estimulante da secreção da biliar (Brandão, Carvalho e Jesué, 1992) e regulador do fluxo menstrual. O óleo da polpa do pequi é usado contra bronquites, gripes e resfriados e no controle de tumores (Almeida et al., 1998).

✧ De todos os usos, o de maior destaque é o do fruto, na alimentação. Esse grande consumo de pequi pelos sertanejos deve-se ao alto valor nutricional que o mesmo apresenta. Franco (1982) transcreveu as análises dos componentes nutricionais em 100 g de polpa: 20 000 µg de vitamina A, 12 mg de vitamina C, 30 µg de tiamina, 463 µg de riboflavina e 387 µg de niacina. Posteriormente, estudos de Almeida e Silva (1994) demonstraram que em 100 gramas de polpa de pequi encontram-se 271,1 calorias e, recentemente, Ribeiro (2000) mostrou

que o percentual de proteínas presente na polpa de pequi (13,5%) é superior ao encontrado no arroz e na batata, razões pelas quais é conhecido como a "carne dos pobres" no Norte de Minas.

2.2.4 Aspectos econômicos do pequi

O pequi, além de ser utilizado na alimentação, constitui-se em uma fonte de renda para os moradores do sertão. Fornece produtos como o óleo da polpa, que pode ser utilizado também para temperar alimentos e curtir pimenta (Azevedo, 1987). As sementes fornecem um óleo (manteiga de pequiá), que possui propriedades aromáticas e é utilizado na fabricação de licores e produção de paçoca, além da fabricação de sabão (Brandão, Carvalho e Jesué, 1992).

Segundo Chévez Pozo (1997), o trabalhador rural em Minas, vendendo o pequi "in natura", na beira das estradas, consegue em dois meses o correspondente a 40,7% do total de sua renda anual. Nos outros períodos, se dedica a outras atividades, como assalariado temporário. Se vender o óleo, pode alcançar até 54,7% da sua renda anual, sem contar que o óleo pode ser armazenado e, no período da entressafra do pequi, pode ser vendido a um preço muito maior.

➤ Baseando em dados do IBGE, trabalhos de Almeida et al. (1998) informaram que, no período de 1988 a 1992, houve indícios de aumento de 1.400 para 2.150 toneladas/ano na produção nacional de castanhas de pequi. Em 1995, essa produção teria alcançado 2.454 toneladas, distribuindo-se por oito estados: Minas Gerais (34,5%), Goiás (29,3%), Bahia (14,9%), Pará (9,1%), Ceará (4,0%), Mato Grosso (2,9%) e Maranhão (0,12%). Percebe-se que maior parte da produção concentra-se em Minas, cujas regiões produtoras são o norte e

o Jequitinhonha e Goiás, com a produção concentrada no Vão do Paranã, leste goiano.

2.2.5 Estudos químicos e fitoquímicos do pequi

Oliveira, Gilbert e Mors (1968) estudaram o extrato etanólico das folhas de pequi, pela extração com hexano e clorofórmio. A fração clorofórmica solúvel foi cromatografada em sílica gel, obtendo-se sucessivamente friedelina, friedelanol e ácido oleanólico, que foram identificados pelos seus espectros de massas característicos. A hidrólise ácida do extrato etanólico das folhas forneceu, sucessivamente, β -sitosterol e estigmasterol (mistura), seguida de β -amirina e ácido oleanólico. A fração clorofórmica insolúvel produziu ácido elágico.

Estudando, por meio de cromatografia gasosa, os óleos do fruto e da semente do pequi, Barradas e Handro (1971) mostraram que os óleos do fruto e da semente são quimicamente muito semelhantes, sendo que as diferenças situam-se entre os componentes de menor teor. O fruto apresentou um rendimento em óleo de 5% a 6%, predominando o ácido palmítico (39,0%) e oléico (51,7% a 54,0%), enquanto a semente teve um rendimento de 36,5% e cujas substâncias majoritárias foram palmítico (32,0% a 33,0%), oléico (44,0% a 47,0%) e linoléico (15,0% a 19,0%).

As características físicas e químicas dos frutos maduros de pequi foram avaliadas por Ferreira et al. (1988), cujos estudos determinaram que havia variabilidade pequena dos frutos quanto ao seu tamanho e ao de suas partes. No entanto, os pesos eram bastante variáveis. O estudo apresentou o número médio de 1,5 caroço por fruto, com coeficiente de variação (CV) de 64,80%. A casca

do fruto foi responsável por cerca de 84% do peso total, enquanto a polpa representou 10% e o caroço, aproximadamente, 6%. Na composição química, expressa em g/100g, a polpa mostrou teor em óleo de 61,79g, enquanto a amêndoa de 42,20g. No entanto, a polpa apresentou 6,71g de proteínas e a amêndoa 24,60g. A casca revelou teor mais elevado de carboidratos totais - 91,03g/100g; mas a polpa apresentou um bom nível, de 37,50g/100g, sendo que, destes, 24,21g/100g eram de carboidratos solúveis. No conteúdo de minerais, o fruto, como um todo, mostrou-se muito rico, sendo que a maior concentração desses elementos ocorre na amêndoa, na qual destacaram-se: fósforo (1.080 mg/100g), potássio (1.340 mg/100g) e ferro (66 mg/100g).

Paula et al. (2000) determinaram a composição química dos óleos essenciais das folhas e sementes dos frutos de *Caryocar brasiliense* por hidrodestilação do tipo Clevenger, comparando-se os teores de óleos de ambas partes na estação seca e na chuvosa. Houve diferença no teor de óleo essencial do fruto entre as duas estações, sendo maior na estação seca (0,095%) do que na chuvosa (0,0036%). Entretanto, não se obteve diversidade qualitativa. Das folhas, foi obtido óleo somente daquelas coletadas durante a estação chuvosa, com 0,003% de rendimento. As substâncias majoritárias identificadas foram: hexanoato de metila (94,41%), tigolato de propila (2,69%), octanoato de etila (2,22%) e pentanoato de metila (0,68%), no fruto; octacosano (18,63%), heptadecano (16,33%), dodecanoato de isoamila (13,01%), entre outros, na folha.

2.3 Química dos produtos naturais

Segundo Putnam (1983), a comunicação química entre os seres vivos representa um campo de atividade desafiante, de grande valor científico e de enorme aplicação. Substâncias alelopáticas, tais como, cânfora, psoraleno e florizina, que participam da guerra química entre os organismos vivos podem ser isolados de plantas, microorganismos e solos. Para Almeida, citado por Braz-Filho (1994), todos os seres vivos sintetizam substâncias alelopáticas, porém, as plantas são responsáveis pela maior quantidade e diversidade desses compostos. A identificação destas substâncias auxilia os pesquisadores de melhoramento genético na busca de genótipos mais resistentes a bactérias, fungos e insetos e também proporciona dados que poderão auxiliar no combate específico de predadores de culturas destinadas à alimentação humana.

Há muitos produtos naturais com ações inseticidas que apresentam grande importância para a sociedade. As principais plantas das quais são obtidos compostos com atividade inseticida pertencem aos gêneros *Nicotiana* (Solanaceae), produtoras de nicotina e nornicotina; *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia* e *Mundulea* (Leguminosae), produtoras de rotenóides; *Chrysanthemum* (Asteraceae), produtoras de piretrinas e *Azadirachta* (Meliaceae), produtoras de azadiractina. Esta última substância é considerada um limonóide ou meliacina, devido ao seu sabor amargo e apresenta como atividade a ação fago-inibidora, sendo, inclusive, comercializada com o nome Margosan-O®, nos Estados Unidos. A azadiractina tem ocorrência restrita em duas plantas, *Azadirachta indica* A. Juss. e *Melia azedarach* L. de origem asiática, mas já foi introduzida em vários países, inclusive no Brasil, onde é conhecida como cinamomo ou Santa-Bárbara (Simões et al., 1999).

Miles et al. (1993) isolaram a substância N-(4'bromofenil)-2,2-difenilacetanilida do extrato clorofórmico de *Arundo donax*, família Gramineae,

cujos estudos demonstraram que ela inibe a atividade alimentar do "bicudo", uma praga do algodão (80% com 5 mg). Esta substância foi sintetizada antes do isolamento de uma fonte natural.

A casca de raízes de *Erythrina absyssinica*, família Leguminosae, é amplamente utilizada no leste da África em vários remédios populares, dentre eles, tratamentos de sífilis e malária. A investigação química permitiu o isolamento de quatro pterocarpanos, cinco flavonas e uma chalcona, que revelaram, individualmente, moderada ação antimicrobiana. Entretanto, a quantidade de flavonóides ativos poderá assumir importante ação de defesa da planta contra o ataque de microorganismos do solo (Taniguchi e Kubo, 1993).

A química dos produtos naturais tem importância também como fonte de fármacos. Diretamente, muitas substâncias de origem vegetal fazem parte do arsenal terapêutico do século XX. Entre elas, a pilocarpina, um alcalóide extraído das folhas do jaborandi, nome popular que abrange várias espécies do gênero *Pilocarpus*, da família Rutaceae. Essa substância encontra emprego na oftalmologia, atuando como miótico (provoca contração da pupila) e atenua os sintomas do glaucoma (hipertensão intra-ocular). No Brasil, o Estado produtor por excelência é o Maranhão, no qual toda produção é exportada (Rizzini e Mors, 1976).

Entre os novos recursos quimioterápicos disponíveis para o tratamento do câncer, o taxol (paclitaxel 20) é um exemplo marcante. Este diterpeno complexo foi identificado na planta *Taxus brevifolia* (teixo), no qual foram constatadas atividades citotóxicas de seus extratos, na década de 1960, pelo National Cancer Institute (NCI), nos Estados Unidos. Em 1966, Wall et al. isolaram o componente ativo em 0,2%, a partir de extratos da casca seca. Este composto foi recentemente sintetizado por hemissíntese, a partir da 10-deacetilbaccatina III, precursor natural de *Taxus baccata* ou por síntese total (Corrêa, 1995).

A alantóina é uma substância que possui atividade antiinflamatória, antipéptica, antipsoríase, antiúlcera, imunoestimulante e queratolítica. Ferreira et al. (2000) isolaram esta substância das raízes de *Pyrostegia venusta* (cipó ou flor de São João) com um rendimento de 6,89%, sugerindo que esta espécie vegetal seja utilizada como fonte natural para a comercialização deste composto.

O outro pólo de estudos da química dos produtos naturais tem sido no emprego destes, como matéria-prima para a síntese de diferentes substâncias bioativas. Como exemplo, tem-se a fisostigmina, cuja dissociação e a associação de seu grupo farmacológico resultaram em diversos novos e melhores agentes anticolinesterásicos (Korolkovas e Burckhalter, 1988).

Barreiro e Fraga (1999) estudaram o safrol, um dos principais componentes de óleos essenciais brasileiros, ocorrendo no óleo de sassafráz (*Ocotea* sp) obtido de diferentes espécies de canela encontradas no sul do Brasil. O estudo deste alil-benzeno natural resultou no conhecimento da reatividade deste sistema, de modo que todos os átomos de carbono possam ser funcionalizados para a obtenção de substâncias de diferentes atividades terapêuticas, como para a síntese de substâncias bioativas na cascata do ácido araquidônico.

O estudo da química dos produtos naturais deve ser considerado de outro ponto de vista, que é o da soberania nacional sobre seus recursos naturais. Não é de hoje conhecido o emprego da propriedade intelectual para legitimar a propriedade e o controle exclusivo dos recursos biológicos e genéticos e do conhecimento tradicional associado sem que se reconheça, recompense ou proteja os direitos dos inovadores informais. Assim, a propriedade é retida por quem desenvolve os produtos e os lança no mercado, cujo controle é exercido atualmente por poucas corporações transnacionais que monopolizam o mercado de produtos de biotecnologia (Gomes, 1998).

No Brasil, podemos citar dois casos: o do jaborandi, que teve seu princípio ativo patenteado pelo laboratório Merck e o muirapuama (*Ptychopetalum olacoides*), patenteado pelo complexo japonês Taisho Pharmaceutical Company, não se tendo notícias de que houve pagamento às comunidades tradicionais pelo conhecimento revelado (Pires, 1999).

2.4 Fungicidas

2.4.1 Conceito e história

As doenças em plantas sempre foram motivo de grandes preocupações, já que perdas sempre ocorreram. Por estas razões, muitas entidades consideram que os fungicidas são insumos importantes e imprescindíveis para a produção mundial de alimentos. Estes têm a função de manutenção do potencial produtivo das culturas, como também contribuem para a manutenção da germinação e vigor das sementes e no prolongamento da vida útil dos frutos em pós-colheita. A palavra fungicida é originada de duas palavras latinas: "caedo" que significa matar e "fungi", fungo (Chaves, 1966).

De acordo com Cruz Filho e Chaves (1979), os compostos fungicidas podem matar os fungos ou podem apenas inibir temporariamente a germinação dos esporos, inibindo o crescimento fúngico, razões pelas quais são denominados de agentes fungistáticos. Há os agentes antiesporulantes, que são compostos químicos que inibem ou previnem a produção de esporos, sem afetar o crescimento micelial do fungo.

Tem-se notícia do uso de fungicidas desde as antigas civilizações, porém o progresso no conhecimento destes compostos ocorreu a partir do século XVII,

principalmente devido ao avanço da química. Ao longo desses anos, houve períodos de predominância de um tipo de fungicida, em que cada grupo teve sua importância para a época. Dessa forma, pode-se dividir a história dos fungicidas em cinco eras: inorgânicos sulfurados (enxofre e calda sulfo-cálcica -1000 a.C até a descoberta do cobre e calda bordalesa - por volta de 1882); inorgânicos cúpricos (1882-1934); fungicidas protetores orgânicos (1934-1960); fungicidas orgânicos sistêmicos (a partir de 1960) e fungicidas orgânicos sistêmicos com movimento no simplast e que induz à resistência aos patógenos (a partir do ano 2000).

Ao passar por essas eras, os fungicidas foram evoluindo em vários aspectos, como: doses, tipos de formulações, diminuição da toxicidade, retiradas de compostos altamente nocivos ao homem e ao meio ambiente e o surgimento de maiores informações. No entanto, ainda assim, muitos problemas têm surgido com o uso dos fungicidas sintéticos atualmente utilizados, dos quais se destacam: contrariedade à lei; compostos, cujos produtos de degradação (os metabólitos) são muito tóxicos; persistência de resíduos no meio ambiente; desrespeito ao período de carência e a aquisição de resistência (Zambolim, Costa e Vale, 2000).

Em função desses fatores, vem se verificando uma crescente procura por defensivos alternativos, que seriam, segundo Fernandes (2000), todos os produtos químicos, biológicos, orgânicos ou naturais com as seguintes características: praticamente não tóxicos, baixa ou nenhuma agressividade ao homem e à natureza, eficientes no combate aos insetos e microorganismos nocivos, não favoreçam a ocorrência de formas de resistência de pragas e microorganismos, custo reduzido para aquisição e emprego, simplicidade quanto ao manejo e aplicação e alta disponibilidade para aquisição. Assim, poderiam ser enquadrados nesta categoria os diversos biofertilizantes, as caldas (sulfocálcica, bordalesa, Viçosa e outras), os agentes de biocontrole e os extratos vegetais.

2.4.2 Extratos de plantas com atividades fungicidas

As plantas encontram-se, na natureza, expostas em todos os estados do seu ciclo de vida a parasitas de diferentes categorias que estabelecem contato com os seus tecidos. No entanto, na maioria das vezes, esses contatos não resultam em doença para a planta. A maioria dos agentes patogênicos é incapaz de atacar a maioria delas, sendo a resistência o caso mais generalizado e a susceptibilidade o menos freqüente (Rodrigues Júnior, 1980).

De um modo geral, os fatores de resistência a que se tem atribuído esse papel são a barreiras morfológicas ou estruturais (físicas) e as barreiras químicas. Ambos podem ser já operacionais antes da infecção (constitutivos ou passivos) ou resultarem após a interação hospedeiro-parasita (induzidos ou ativo). Há, ainda, no caso de compostos inibitórios, as substâncias semiconstitutivas, isto é, aqueles compostos que são preexistentes nas células do hospedeiro, porém, têm sua concentração aumentada após a infecção (Rodrigues Júnior, 1980; Pascholati e Leite, 1994).

Catarino et al. (1988) avaliaram os efeitos dos extratos clorofórmico de folhas de *Tagetes minuta* e hexânico de folhas de *Vernonia polyanthes*, na concentração de 1% em BDA, incorporados ao meio antes e após a autoclavagem, sobre o crescimento micelial de *Colletorichum gloeosporioides*, *Botrytis cineria* e *Trichoderma* sp. Ambos os extratos tiveram ação inibitória sobre os dois primeiros fungos, com níveis variando de 18% a 54% de inibição. No entanto, nenhum dos extratos foi ativo sobre o *Trichoderma* sp.

O extrato bruto etanólico de *Chenopodium ambrosioides* inibiu o crescimento micelial e a germinação de escleródios de *Sclerotium rolfsii* (fungo patogênico de raízes). Este extrato foi aplicado em placas de cromatografia em camada delgada preparativa (CCD), obtendo-se cinco manchas que foram purificadas, resultando cinco frações, sendo que duas delas apresentaram

excelente atividade inibitória. Essas frações foram cromatografadas em coluna, obtendo mais frações que foram novamente testadas, nas quais sete apresentaram atividade (Ferracini e Melo, 1990).

Visando ao controle do fungo *S. cepivorum*, Pinto (1992) realizou pesquisas com extratos de *Braquiaria humidicola*, *Crotalaria paulinea* e *Eucaliptus citriodora*, em diferentes concentrações, sobre a ação destes no crescimento micelial e na germinação de escleródios do microorganismo. No entanto, mesmo em altas concentrações (até 1000 mg/L), não foi observada nenhuma influência.

Laranjeira, Neves e Oliveira (1995a), avaliando a ação de extratos concentrados da raspa do caule do juazeiro (*Zizyphus joazeiro*), em várias diluições em água, sobre o crescimento de *Pseudomonas solanacearum*, verificaram a incapacidade dos mesmos nesse controle. Os mesmos autores, em outro experimento, utilizaram extratos obtidos da raspa do caule de juazeiro (*Zizyphus joazeiro*) e de folha de sisal (*Agave sisalana*) no controle do fungo *Botryoploidia theobromae*, agente causador da morte da mangueira (Laranjeira, Neves e Oliveira, 1995b). Usaram, como meio de cultura, BDA acrescido de diferentes concentrações de juazeiro e sisal. Concluíram que os extratos testados apresentaram alterações no crescimento micelial, produção e fertilidade de picnídios de *B. theobromae*.

Estudando o efeito do extrato de bulbo de alho sobre o crescimento micelial e germinação de conídios dos fungos *Curvularia brachyspora*, *C. pallescens*, *Alternaria alternata* e *A. longipes*, em diferentes concentrações em água destilada, Barros, Oliveira e Maia (1995) observaram que o extrato não afetou a germinação dos conídios dos quatro fungos. Porém, os fungos mostraram-se sensíveis à concentração de 25 mg/100g, reduzindo significativamente o diâmetro das colônias com o aumento da concentração do extrato de alho.

Testes para avaliar o efeito de extratos de duas formas de *Lippia alba* sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.), isolado de *Citrus* sp., demonstraram que substância(s) presente(s) em folhas secas das duas formas altera(m) o padrão de germinação dos conídios, aumentando o comprimento e a largura do tubo germinativo e impedindo a formação de apressório. O extrato etanólico mostrou ser o mais eficiente na redução do crescimento micelial, enquanto o extrato aquoso não exibiu efeito algum nesse sentido (Santos, 1996).

Konstantinidou-Doltsinis e Schmitt (1998) analisaram a eficácia dos extratos aquosos de *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai contra míldio purulento em pepino (*Cucumis sativus* L.) no desenvolvimento deste em casas de vegetação. Constataram que os extratos induziram resistência contra os fungos em até 90%. As plantas tratadas com esses extratos produziram tanto quanto ou até mais frutos que plantas tratadas com fungicidas sintéticos, sendo que as plantas tratadas com os extratos aumentaram a produção em até 49% em relação às plantas controle, não tratadas com nenhum fungicida.

Buscando avaliar a atividade antifúngica de plantas medicinais sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, agente da murcha vascular do tomateiro, Morais et al. (1999) fizeram uma triagem, in vitro, de extratos brutos das seguintes espécies: *Ouratea floribunda*, *Lauracea capilaris*, *Lafoensis glyptocarpa* e *Ouratea grandiflora*, preparados nas concentrações de 2 mg/mL, diluídos em dimetilsulfóxido/metanol. Após três repetições, a atividade positiva foi verificada nas plantas *L. capilaris*, *L. glyptocarpa* e *O. grandiflora* para a cepa ENA 4491 e *O. floribunda* cepa ENA 4514, no entanto, com efeito inferior ao padrão.


Os extratos aquosos dos bulbilhos de *Allium sativum* L. das folhas de *Mentha piperita* e *Ricinus communis* (mamona) e dos frutos de *Capsicum* spp. (pimenta), em diferentes concentrações, foram avaliados quanto às suas ações sobre o crescimento e a produção de conídios de *Colletotrichum*

gloeosporioides, agente de podridão em frutos de mamoeiro. A partir da concentração de 20 mg/100g, os extratos de *Allium sativum* inibiram o crescimento micelial, porém, não atuaram de modo expressivo sobre a produção de conídios. Os outros dois extratos tiveram efeitos contrários, reduzindo drasticamente a produção de conídios (Ribeiro e Bedendo, 1999).

Silva (2000) avaliou a atividade dos extratos de caule e folhas de *Thunbergia alata*, *Oxalys hirsutissima*, *Waltheria indica*, *Baccharis dracunculifolia* e *Pyrostegia venusta* sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum dematium*, nas concentrações de 100 e 500 ppm. Foi avaliada a ação das plantas *Thunbergia alata* e *Oxalys hirsutissima* na germinação de esporos desses fungos. Todas as plantas apresentaram uma redução do crescimento micelial, entretanto, *Thunbergia alata* e *Oxalys hirsutissima* apresentaram uma redução significativa entre as demais. O extrato clorofórmico de *Thunbergia alata* inibiu em 100% nas concentrações de 0,1, 5, 10 e 50 mg/100g a germinação de esporos.

2.5 As espécies de fungos *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*

A espécie de fungo fitopatogênico, *Botrytis cineria*, é um conhecido agente causador de doenças como o tombamento de mudas, em eucaliptos e a podridão cinzenta ou mofo cinzento, em roseiras, entre outras. Esse fungo é patógeno de plantas, amplamente distribuído no mundo e possui um grande número de hospedeiros, inclusive espécies ornamentais. Em roseiras, este agente causa danos econômicos severos, pois incide sobre as pétalas, provocando lesões, reduzindo a produção e a qualidade do produto ou pode induzir a infecções latentes, que só serão percebidas de forma vultosa após a colheita,



durante o armazenamento ou transporte. O controle fundamenta-se, principalmente, no emprego de fungicidas, cuja eficiência tem sido bastante limitada (Araújo, 1995).

A antracnose da soja (*Glycine max* L. Merrill), causada por *Colletotrichum truncatum* (Schw.) Andrus e Moore, é considerada uma doença importante, especialmente em regiões quentes e úmidas e em lavouras com alta densidade de plantas. O fungo sobrevive nos restos de cultura e em sementes infectadas, onde apresenta longevidade superior a de outros patógenos, como *Phomopsis* sp., *Fusarium semitectum* e *Cercospora kikuchii*. Hoje, o recurso de controle mais amplamente empregado no Brasil é o tratamento de semente com fungicidas sistêmicos misturados aos de contato (Yuyama e Henning, 1999). Existem poucos dados sobre a redução da produção, devido a moléstias no Brasil, mas, nos Estados Unidos, o prejuízo em 1980 foi estimado em torno de US\$ 135 a 140 milhões e, em 1977, a perda mundial devido a doenças, foi estimada em cerca de 7 milhões de toneladas (Yorinori, 1982). Meyer e Yorinori (1999) avaliaram, de 1991/92 até 1997/98, a ocorrência de doenças da soja em lavouras do Maranhão, Piauí, Tocantins, Pará e Roraima, com o objetivo de monitorar a incidência e avaliar os níveis de danos e constataram que é generalizada a ocorrência de doenças no final do ciclo, entre elas a antracnose. Os níveis de danos registrados para doenças de final de ciclo variaram entre 9% e 15%.

Os fungos do gênero *Fusarium* entre um dos mais importantes fitopatógenos do mundo, tendo, nos últimos anos, em alguns países, adquirido importância também como produtores de micotoxinas responsáveis por doenças em animais e humanos. O mal do Panamá, fusariose ou murcha-de-fusarium é causado pelo fungo *Fusarium oxysporum cubense*, que é um fungo de solo com alta capacidade de sobrevivência. Esta espécie está em todos os estados brasileiros produtores de banana, uma das frutas de maior consumo *in natura* do

mundo, sendo que, no Brasil, é utilizada na alimentação básica. O controle químico, a rotação de culturas e a inundação, dentre outras medidas de controle, não têm sido eficientes (Ventura, 1999; Pereira et al., 1999).

Pozza (1994) determinou a frequência de doenças da parte aérea de plantas na região de Lavras-MG, na qual determinou a ocorrência de 525 doenças causadas pelos mais variados agentes. No entanto, os fungos foram os causadores de 81,5% do total. Os agentes etiológicos de maior ocorrência foram *Fusarium* sp. (12,1%), seguido de *Colletotrichum* sp. (10,5%), entre outros. A espécie *Botrytis* sp teve a frequência de 3,2% de doenças.

2.6 Fitoquímica

2.6.1 Metabolismo secundário

De acordo com Rodrigues (1998), as plantas sintetizam uma série de substâncias, as quais são divididas, de um modo geral, em originadas pelo metabolismo primário e as do metabolismo secundário. As primeiras têm existência e função comuns a todo o reino vegetal, são consideradas essenciais à sobrevivência da espécie e relacionadas com funções vitais, como fotossíntese e respiração. As segundas são consideradas como resposta do seu relacionamento com o meio ambiente e dependente de suas características genéticas, portanto, caracterizando mais a individualidade de uma espécie ou de um determinado grupo. As pesquisas em torno das plantas têm demonstrado que os seus "princípios ativos" são oriundos do metabolismo secundário.

Os metabólitos secundários possuem importantes funções nos vegetais, pois se constituem em substâncias que estão diretamente envolvidas nos

mecanismos que permitem a adequação do produtor a seu meio. Dessa maneira, esses compostos podem estar envolvidos e/ou exibir funções de reserva, proteção contra radiação UV, defesa contra herbívoros e microorganismos, proteção contra estresse osmótico e nutricional, atração e polinização de organismos, alelopatia, interações com outras plantas (Bennett e Wallsgrove, 1994).

Segundo Balandrin e Klocke (1988), a produção e o acúmulo de compostos secundários pelas plantas são metabolicamente dispendiosos, razão pela qual os mesmos são encontrados em quantidades mínimas, se comparados com os compostos primários, embora exibam atividades biológica potentes. Para Simões et al. (1999), os metabólitos secundários de importância farmacológica são: os alcalóides, taninos, antraquinonas, flavonóides, terpenóides e esteróis, glicosídeos cianogênicos, entre outros.

Além dos metabólitos secundários já citados, destacam-se os óleos essenciais, voláteis ou etéreos, que são compostos encontrados em várias plantas e possuem como características básicas o sabor, o cheiro agradável e intenso. São insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos, sendo extraídos por arraste de vapor ou prensagem de pericarpos de frutos cítricos. Embora tenham solubilidade limitada em água, esta é suficiente para aromatizar as soluções aquosas, que são denominadas de hidrolatos. Sua principal propriedade, no entanto, é a sua volatilidade, diferindo dos óleos fixos, misturas de substâncias lipídicas.

Os óleos essenciais são misturas complexas de substâncias que variam desde hidrocarbonetos terpênicos, álcoois simples e terpênicos, aldeídos, cetonas até compostos com enxofre. Normalmente, um composto é majoritário e outros apresentam-se em menores teores. Os óleos podem ocorrer em estruturas secretoras especializadas e podem ser estocados em certos órgãos. Todos os órgãos de uma planta podem acumular as essências, porém, a sua composição

pode variar segundo sua localização. Outros fatores podem alterar a composição química de um óleo essencial, como época de coleta, condições climáticas e de solo (Simões et al., 1999).

2.6.2 Estudo fitoquímico

Para Matos (1988), o estudo fitoquímico consiste na extração e identificação dos metabólitos secundários, buscando conhecer a composição e a estrutura dessas substâncias. Uma planta com reconhecidas aplicações terapêuticas contém centenas de metabólitos secundários, mas apenas os compostos presentes em maiores concentrações são geralmente isolados e identificados pela fitoquímica clássica. A análise fitoquímica preliminar, no entanto, pode indicar os grupos de metabólitos secundários relevantes na mesma. Os passos básicos para o desenvolvimento desse estudo, de acordo com Matos (1988) e Simões et al. (1999), consistem em: escolha da planta a ser estudada, identificação botânica, coleta e preparação do material vegetal, prospecção preliminar de sua composição química, isolamento e purificação dos constituintes principais, determinação da estrutura molecular dos compostos químicos isolados e purificados.

O registro do local, data e hora da coleta da planta é importantíssimo para uma melhor avaliação dos constituintes químicos. A utilização de material vegetal fresco pode ser importante para a detecção de alguns componentes específicos, no entanto, exige o processamento imediato ou a conservação do material por pouco tempo a baixas temperaturas. Por outro lado, o uso de materiais secos é preferível, devido a sua maior estabilidade. Faz parte também

da preparação do material vegetal, a moagem, que permite uma rápida secagem e uma extração mais eficiente.

O ponto de partida para a análise consiste na extração das substâncias que fazem parte da planta. Há várias formas de extração, podendo ser a quente ou a frio e diversos solventes podem ser utilizados, dependendo dos objetivos de cada pesquisa. Em análises fitoquímicas, quando não se conhece previamente o conteúdo do material vegetal a ser analisado, costuma-se submeter o material vegetal a sucessivas extrações, com solventes de polaridade crescente (Tabela 1), conseguindo-se, assim, uma extração fracionada, em que diferentes frações contêm compostos de polaridade também crescente.

Para a separação das substâncias, utiliza-se uma técnica muito eficiente, a cromatografia. Constitui-se em um processo de análise que permite o fracionamento de misturas em seus componentes, com muita precisão, bem como a análise e identificação de misturas ou substâncias isoladas. Muito utilizadas na análise fitoquímica são as cromatografias do tipo: líquida de coluna (CLC), de camada delgada (CCD) e a gasosa (CG).

A determinação da estrutura molecular dos constituintes isolados é feita principalmente pela interpretação de vários espectros obtidos em aparelhagem especial, sendo os espectrômetros, basicamente, de absorção das radiações ultravioleta, visível, infravermelho, espectrômetro de ressonância magnética protônica e de carbono 13 e espectrômetro de massa utilizados. Essas técnicas são atualmente as mais empregadas porque são rápidas, eficazes e empregam-se pequenas quantidades, da ordem de miligrama a micrograma, de substância.

TABELA 1: Relação entre os solventes e os tipos de substâncias preferencialmente extraídas.

Solvente	Tipo de Substâncias Extraídas
Éter de petróleo, hexano	Lipídeos, ceras, pigmentos, furanocumarinas
Tolueno, diclometano, clorofórmio	Bases livres de alcalóides, antraquinonas livres, óleos voláteis, glicosídeos cardiotônicos
Acetato de etila, n-butanol	Flavonóides, cumarinas simples
Etanol, metanol	Heterosídeos em geral
Mituras hidroalcoólicas, água	Saponinas, taninos
Água acidificada	Alcalóides
Água alcalinizada	Saponinas

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Estudo fitoquímico

Esta parte do trabalho foi realizada no Laboratório de Química Orgânica, do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras-MG.

3.1.1 Coleta do material vegetal

Foram objeto de estudo deste trabalho as folhas, os botões florais e os frutos de pequi. As folhas adultas, não deterioradas, com ausência de infecções e os botões florais, todos fechados, foram coletados em novembro de 1999, às 15:30h, de um dia chuvoso e com temperatura amena. Essa coleta ocorreu em uma população de pequis nativos, situada no município de Itumirim-MG. No mesmo local, porém, em fevereiro de 2000, às 15:00h, de um dia muito quente, foram coletados os frutos maduros que se encontravam ao chão e também os que estavam próximos de cair. Salienta-se, no entanto, que devido ao pouco rendimento de algumas partes do fruto, foi necessária outra coleta, dias após à primeira, nas mesmas condições.

A identificação da espécie foi realizada por meio da comparação com material existente no Herbário ESAL (Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras - UFLA - MG). Uma exsicata da espécie, coletada no local de estudo, foi incorporada ao acervo do referido herbário, sob o registro nº 16.118.

3.1.2 Preparação dos extratos

As amostras das folhas e dos botões florais foram pesados frescos, triturados em triturador tipo Politron, secados em estufa com circulação mecânica (estufa ventilada) Mod-320-SE-FANEM, pesados novamente e, em seguida, submetidos à extração dos metabólitos secundários. Os frutos frescos foram fragmentados em três partes: a massa do mesocarpo externo (ME), a massa do mesocarpo interno (MI) e a amêndoa (A), divididas em pequenos fragmentos e submetidas à extração.

Para a obtenção dos extratos brutos (Figura 3), cada amostra (485,50g de folha/2L de solvente; 719,74 g de botão floral/2L de solvente; 444,12 g de mesocarpo externo/1,5L de solvente; 703,59g de mesocarpo interno/2L de solvente e 378,52g de amêndoa/1L de solvente) foi macerada a frio, com o solvente hexano, protegida da luz, por oito dias. Após esse tempo, as amostras foram filtradas em funil de Büchner, obtendo a torta, que foi à estufa ventilada a $40 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas, para completar a evaporação do solvente. O filtrado de cada extração foi submetido ao evaporador rotatório modelo Büchi R-14, sob pressão reduzida, obtendo-se o extrato bruto. Esse permaneceu em estufa a temperatura de $40 \pm 2^\circ\text{C}$ para completar a evaporação do solvente. Em seguida, a torta foi submetida à extração com o clorofórmio, pela mesma metodologia acima descrita. Esse processo foi repetido com os solventes acetato de etila, etanol e metanol.

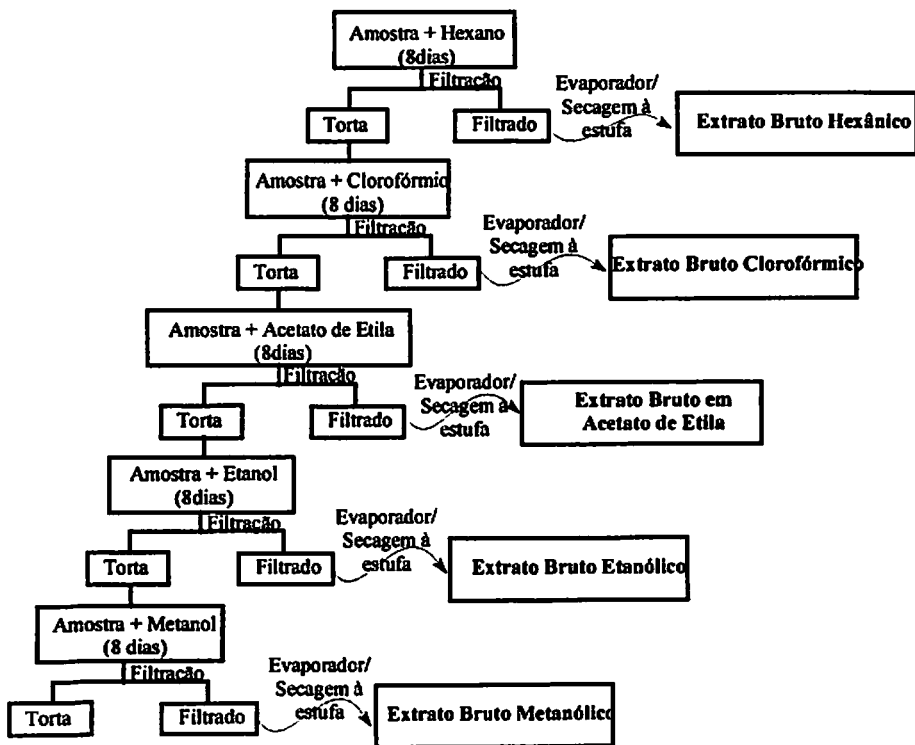


FIGURA 3: Esquema de extração para a obtenção dos extratos brutos de pequi.

3.1.3 Testes fitoquímicos preliminares

Os testes fitoquímicos preliminares foram realizados com os extratos brutos da folha (104,52g) e do botão floral (130,53g). Para a obtenção desses extratos, ambos os materiais foram triturados e secos em estufa ventilada a 40°C, que, em seguida, foram colocados sob refluxo em etanol durante 1 hora, seguindo-se a filtração em funil de Büchner. O processo foi repetido por três

vezes com o mesmo material. Todos os extratos foram reunidos e concentrados em evaporador rotatório, cujo resíduo obtido foi utilizado para a caracterização dos principais grupos de substâncias vegetais de interesse, por meio de reações químicas específicas que resultaram no desenvolvimento de coloração e/ou precipitado característico. Realizaram-se os seguintes testes de identificação (Matos, 1988; Simões et al., 1999):

- Açúcares redutores - **Reativo de Felhing**
- Taninos - **Solução ácida de cloreto férrico a 1%**
- Flavonóides - **Teste de cianidina**
- Esteróides e triterpenóides - **Reação de Liebermann-Burchard**
- Derivados de cumarina - **Teste com luz ultravioleta**
- Saponina - **Teste de formação de espuma**
- Alcalóides - **Reagente de Bouchardat**
- Antraquinonas - **Reação de Bornträger**

3.1.4 Fracionamento dos extratos

O extrato bruto metanólico do mesocarpo externo (MME) do fruto do pequi foi utilizado para as análises cromatográficas. Empregaram-se 50 mg desse extrato, dissolvidos em 5 mL de metanol. Ele foi submetido à cromatografia líquida de coluna (CLC), com uma coluna de 50 cm de comprimento por 3 cm de diâmetro, recheada de sílica gel 60, 70-230 mesh Merck®, eluída com: hexano, clorofórmio, acetato de etila, etanol, metanol, ácido acético e água. Esses solventes foram definidos pela série eluotrópica em cromatografia de camada delgada (CCD). Coletaram-se treze frações de 30 mL (Figura 4).

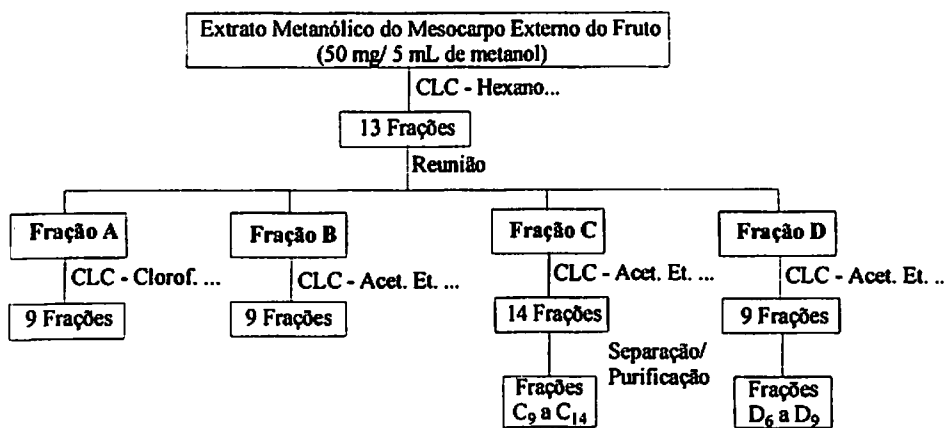


FIGURA 4: Esquema de separação e purificação do extrato bruto metanólico do mesocarpo externo do pequi.

As treze frações (Figura 4) foram monitoradas por CCD, de forma que as frações que apresentaram o mesmo perfil cromatográfico foram reunidas, evaporando o solvente. Dessa forma foram obtidas: **Fração A**, decorrente da união das frações clorofórmio e clorofórmio/acetato de etila; **Fração B**, união das frações acetato de etila/etanol, etanol, etanol/metanol e metanol; **Fração C**, frações ácido acético/metanol, ácido acético e ácido acético/água e a **Fração D** consistindo somente da fração aquosa.

As quatro frações foram submetidas a uma nova CLC, seguindo-se o mesmo procedimento inicial. Na segunda CLC, das frações A, B e D resultaram 9 frações cada uma e da fração C, 14. Essas frações foram identificadas por uma letra, correspondendo à fração original e por um número, que correspondeu à sua ordem de eluição. Assim, por exemplo, chamou-se A₁, A₂, ..., A₉, às frações

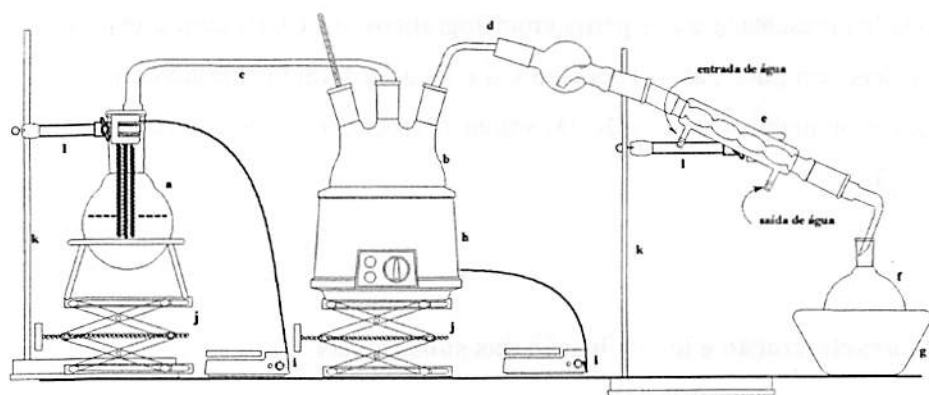
obtidas na segunda CLC da fração A, nesta seqüência, sucessivamente. Devido à quantidade apresentada e aos perfis cromatográficos em CCD, com a obtenção de manchas semipuras, as frações C₉ a C₁₄ e D₆ a D₈ foram analisadas em CCD analítica e preparativa e a fração D₉ sofreu o processo de recristalização para purificação.

3.1.5 Caracterização e identificação das substâncias

As substâncias foram caracterizadas pelo seus fatores de retenção (R_f - que é a razão entre a distância percorrida pela substância em questão e a distância percorrida pela fase móvel), que foram calculados com base na média dos resultados de três placas, cujas manchas foram reveladas em atmosfera de iodo (I₂). Os resíduos obtidos foram submetidos à espectrometria de infravermelho (IV), empregando um espectrômetro modelo FTIR - 8201 A-Shimadzu, utilizando-se pastilhas de KBr como suporte.

3.2 Extração de óleo essencial e identificação de seus componentes

Foram submetidos 68 g do botão floral seco e 90g do mesocarpo interno do fruto do pequi à técnica de arraste de vapor de água (Figura 5), por 1,5h, obtendo-se 1,5 litro de hidrolato. Estes foram particionados com diclorometano (CH₂Cl₂), separando-se a fase aquosa da orgânica. Todas as frações orgânicas foram reunidas, com posterior adição de sulfato de magnésio anidro, para retirar qualquer excesso de água. Filtrou-se, levando o filtrado para evaporação no evaporador rotatório, obtendo-se o óleo puro.



- a- balão de boca larga com fonte de aquecimento para ferver água e gerar vapor;
- b- balão de fundo redondo com três bocas, no qual foram colocadas as folhas verdes;
- c- conector, pelo qual o vapor gerado em a chega a b;
- d- juntas conectantes macho e fêmea;
- e- condensador;
- f- recipiente para receber o hidrolato;
- g- cuba com gelo;
- h- manta aquecedora;
- i- termostato;
- j- elevador;
- k- suporte para garras;
- l- garras.

FIGURA 5: Representação esquemática do equipamento adaptado para extração de óleo essencial pelo sistema por arraste a vapor - Laboratório de Química Orgânica - Departamento de Química - UFLA.

Os óleos foram submetidos a uma análise cromatográfica, empregando-se um cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massa (CG-EM)

equipado com uma coluna capilar com fase apolar (chromosob W/1/4" x 2M). Os compostos foram identificados por meio de seus espectros de massas e comparados com os da literatura.

3.3. Análise da atividade biológica

Esta parte do trabalho foi realizada no Laboratório de Controle de Enfermidade do Departamento de Fitopatologia da UFLA.

3.3.1 Teste de solubilidade dos extratos

A solubilidade dos extratos brutos da folha, botão floral, mesocarpo externo e mesocarpo interno do fruto foi avaliada empregando-se os solventes: hexano, clorofórmio, acetato de etila, etanol, metanol, dimetilsulfóxido (DMSO), metanol/água (1:1) e água.

3.3.2 Teste de fungitoxicidade dos solventes

Com o objetivo de selecionar um solvente para solubilizar os extratos que seriam utilizados nos testes biológicos e que não fosse tóxico aos fungos, procedeu-se a um teste. Nele os solventes metanol/água, nas proporções 1:1 e 1:2; DMSO/água e etanol/água, nas mesmas proporções, foram submetidos ao método bioanalítico *in vitro* de inibição de germinação de esporos da espécie

Botrytis cineria. Os tratamentos, com duas repetições, empregados foram: T₁ - testemunha (20 µL de suspensão de conídios + 20 µL de água destilada); T₂ - metanol/água dest. (1:1); T₃ - metanol/água dest. (1:2); T₄ - DMSO/água dest. (1:1); T₅ - DMSO/água dest.(1:2); T₆ - etanol/água dest. (1:1) e T₇ - etanol/água dest. (1:2), todos com 20 µL de suspensão de conídios + 20 µL de solvente. Os resultados foram expressos em porcentagem de germinação.

3.3.3 Efeito dos extratos brutos sobre a germinação de esporos

Os extratos etanólicos da folha (EFL) e do botão floral (EBF) e os extratos metanólicos da folha (MFL), botão floral (MBF), mesocarpo externo (MME) e mesocarpo interno (MMI) do fruto do pequi foram selecionados para os biotestes. Adotou-se o método bioanalítico *in vitro* de inibição de germinação de esporos das espécies *Botrytis cineria* (Bc), *Colletotrichum truncatum* (Ct) e *Fusarium oxysporum* (Fo).

As culturas dos fungos Bc, Ct e Fo foram obtidas da micoteca do Departamento de Fitopatologia da UFLA, repicadas e cultivadas em meios PCA (Potato-carrot agar), PDA (potato-dextrose agar/ BDA - batata-dextrose agar) e SNA (synthetic nutrient-poor agar), respectivamente (Gams, Hoekstra e Aptroot, 1998). Para os testes, utilizaram-se lâminas escavadas de microscopia, nas quais foram colocadas 20 µL de suspensão de esporos de cada espécie, previamente filtradas através de duas camadas de gaze, na concentração de 3 a 6x 10⁴ esp./mL, isolados de colônias jovens dos fungos fitopatogênicos e 20 µL de extratos já solubilizados em metanol/água 1:1.

Cada lâmina foi colocada em uma placa de Petri contendo papel de filtro umedecido em água destilada e mantida em câmara de crescimento, à

temperatura de 21°C (para Bc) e 23°C (para Ct e Fo) e fotoperíodo de 12h luz e 12h escuro. Após 10 horas (Bc e Fo) e 15 horas (Ct) de incubação, a contagem de conídios foi realizada em microscópio ótico, considerando-se germinados aqueles que apresentaram tubo germinativo, independente de seu comprimento. Os resultados foram expressos em porcentagem de germinação, em um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições.

3.3.4. Efeito dos extratos sobre crescimento micelial

A atividade fungitóxica dos extratos etanólicos da folha (EFL) e do botão floral (EBF) e dos extratos metanólicos da folha (MFL), botão floral (MBF), mesocarpo externo (MME) e mesocarpo interno (MMI) do pequi foi avaliada sobre o fungo *Colletotrichum truncatum* (Ct), pelo método bioanalítico *in vitro*, observando-se o crescimento ou inibição do micélio na concentração de 500 mg/L desses extratos vegetais, que foram esterilizados por luz ultravioleta, por 30 minutos antes de serem utilizados nos testes.

Os experimentos foram desenvolvidos em uma capela asséptica de fluxo laminar, na qual 1 mL de cada extrato e 1 mL de solvente metanol/água 1:1 foram distribuídos, através de pipeta automática com ponteiros descartáveis, em uma placa de Petri contendo meio BDA já solidificado. Após a distribuição dos extratos e solvente, com auxílio de alça de Drigalsky, esperou-se por aproximadamente 40 minutos para a completa evaporação do solvente. A seguir, cada placa recebeu um disco micelial de 0,5 cm de diâmetro de uma cultura de Ct crescida em meio de BDA, de forma que o micélio estivesse em contato com o meio de cultura, no centro da placa. As placas foram vedadas com filme

plástico, identificadas e incubadas em câmara de crescimento, à temperatura de $21 \pm 2^\circ\text{C}$, sob fotoperíodo de 12h luz e 12h escuro (Santos, 1996).

Foram realizados dois experimentos separadamente, ambos utilizando os extratos a 500 mg/L, solubilizados no solvente metanol/água 1:1. O primeiro experimento consistiu em: T₁ - testemunha; T₂ - solvente; T₃ - extrato etanólico folha; T₄ - extrato etanólico botão floral; T₅ - extrato metanólico folha e T₆ - extrato metanólico botão floral. O segundo experimento em: T₁ - testemunha; T₂ - solvente; T₃ - extrato metanólico do mesocarpo interno e T₄ - extrato metanólico do mesocarpo externo do fruto, em um delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições.

A avaliação do experimento começou após 48 horas de sua montagem, por meio de medições diárias do crescimento micelial, sendo que cada medição correspondeu à média de duas medidas diametralmente opostas da colônia fúngica, com uma régua. O índice de crescimento micelial (ICM) ou taxa de crescimento micelial foi calculado pela fórmula modificada de Nakagava Maguire, adaptada por Oliveira (1991).

$$\text{ICM} = \frac{C1}{N1} + \frac{C2}{N2} \wedge + \frac{Cn}{Nn},$$

em que:

ICM = índice de crescimento micelial;

C1, C2, Cn = crescimento micelial das colônias na primeira, segunda e última avaliação;

N1, N2, Nn = número de dias.

3.3.5 Análise estatística

3.3.5.1 Extratos brutos etanólicos sobre a germinação de esporos

Foram combinados dois extratos brutos etanólicos (folha - EFL e botão floral - EBF), duas espécies de fungos (*Botrytis cineria* - Bc e *Colletotrichum truncatum* - Ct) e quatro concentrações (C1 - testemunha - suspensão de esporos e água destilada; C2 - solvente - suspensão de esporos e solvente metanol/água 1:1; C3 - extratos a 100 mg/L - suspensão de esporos e 100 mg de extratos solubilizados em 1 litros de solvente e C4 - extratos a 500 mg/L - suspensão de esporos e 500 mg de extratos solubilizados em 1 litro de solvente), segundo o modelo fatorial 2x2x4. Os tratamentos foram dispostos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e analisados pelo sistema SAS de estatística. As médias dos fatores foram avaliadas pelo teste de Tukey, a 5%.

3.3.5.2 Extratos brutos metanólicos sobre a germinação de esporos

Foram combinados quatro extratos brutos metanólicos (folha - MFL, botão floral - MBF, mesocarpo externo - MME e mesocarpo interno - MMI), três espécies de fungos (*Botrytis cineria* - Bc, *Colletotrichum truncatum* - Ct e *Fusarium oxysporum* - Fo) e quatro concentrações (C1 - testemunha - suspensão de esporos e água destilada; C2 - solvente - suspensão de esporos e solvente metanol/água 1:1; C3 - extratos a 100 mg/L - suspensão de esporos e 100 mg de extratos solubilizados em 1 litros de solvente e C4 - extratos a 500 mg/L - suspensão de esporos e 500 mg de extratos solubilizados em 1 litro de solvente), segundo o modelo fatorial 4x3x4. Os tratamentos foram dispostos em

delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições e analisados pelo sistema SAS de estatística. As médias dos fatores foram avaliadas pelo teste de Tukey, a 5%.

3.3.5.3 Extratos brutos sobre o crescimento micelial

As médias dos tratamentos foram avaliadas pelo teste de Tukey, a 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Estudo fitoquímico

4.1.1 Coleta do material vegetal

A espécie de pequi foi coletada no município de Itumirim-MG e identificada como sendo *Caryocar brasiliense* Camb., família Caryocaraceae. Apresentou-se com as características típicas da espécie, descritas por Almeida et al. (1998), item 2.2.2, caracterizando-se por porte baixo, com árvores de, aproximadamente, 5 m de altura, troncos tortuosos e casca grossa. Suas folhas são trifoliadas e pubescentes e os botões florais apresentavam-se em cachos numerosos com mais de cinco unidades e de sépala avermelhada.

A época escolhida para coleta das folhas foi a mais indicada, pois, sendo época da floração, a produção de metabólitos secundários é mais elevada. Ao se coletar folhas adultas, não muitos jovens e nem muito velhas e com ausência de sinais de infecção, estava-se preocupando com a qualidade e a quantidade de princípios ativos produzidos, já que estes fatores podem ser influenciados pelos aspectos acima citados.

Outro dado observado foi a época da floração, caracterizando bem que, na região de Minas, os pequis iniciam sua floração em novembro/dezembro, com a conseqüente frutificação somente em fevereiro. Por essa razão, os frutos só foram coletados naquela época, quando uma boa parte já se encontrava madura.

Muitos frutos estavam infestados por formigas, não sendo adequados para a coleta. Outros foram atacados por algum tipo de animal silvestre, que

comiam a polpa e deixavam somente o caroço. Esse último dado é bastante indicativo de que o pequi realmente serve de alimento para os demais animais.

Os frutos dessa população de pequis apresentaram, em média, de 1 a 2 pirênios, que variavam de pequenos a médios. Por isso, não possibilitaram um bom rendimento da polpa e amêndoa, sendo necessárias outras coletas. Essa variação quanto ao número e peso dos caroços de pequi também foi encontrada por Ferreira et al. (1988), que determinaram em seus estudos a média de 1,5 caroço por fruto, cujo coeficiente de variação foi de 64% e 21 g de peso médio, mas com coeficiente de variação de 20%.

4.1.2 Obtenção dos extratos

Foram obtidos 2.194,87 g de botão floral triturado fresco que, após a secagem, possibilitou um rendimento de 719,79 g, indicando um teor de 67,20% de água nesse material, que foi perdida. A folha apresentou um teor de água de 57,80%, já que dos 1.150 g de folha triturada e fresca, apenas 485,50 g ficaram após a secagem.

Os diferentes tipos de extratos brutos da folha e do botão floral apresentaram características semelhantes (Tabela 2). Os extratos hexânico e clorofórmico dos dois materiais formaram uma espécie de película que impedia a total evaporação do solvente na estufa, demorando muito o processo. Do extrato hexânico de ambos materiais, foi possível a separação dessa película e a constatação de que se tratava de um óleo límpido, claro e inodoro; obtendo-se 425 mg e 487 mg de óleo do botão floral e da folha, respectivamente.

Os outros extratos também tiveram comportamento semelhante, sendo que os extratos das folhas eram em tons verde a verde-petróleo, enquanto que os extratos do botão floral apresentaram uma coloração marrom-avermelhado.

TABELA 2: Rendimento dos extratos brutos da folha e botão floral do pequi.

Extratos	Folha		Botão Floral	
	g	%	g	%
Hexânico	6,41	1,32	2,02	0,28
Clorofórmico	7,46	1,53	1,08	0,15
Acetato de etila	5,05	1,04	6,65	0,92
Etanólico	68,43	14,09	40,04	5,56
Metanólico	47,45	9,77	41,12	5,71
Total:	134,81	27,78	90,91	12,62

De acordo com os dados da Tabela 2, a folha e o botão floral possuem um perfil de metabólitos secundários semelhante, quanto aos teores de substâncias polares e apolares. No entanto, em termos quantitativos, a folha apresenta maiores teores de modo geral. Ressalta-se o alto rendimento dos extratos etanólico e metanólico, principalmente da folha, demonstrando o elevado teor de substâncias polares, como os heterosídeos, de modo geral, já que esses solventes apresentam, como característica, alta polaridade, sendo extratores de substâncias mais hidrofílicas, conforme Tabela 1.

Os procedimentos nos frutos foram um pouco diferentes em relação às folhas e botões florais, já que todas as três partes tiveram as suas extrações de metabólitos secundários na amostra fresca. Constatou-se que o mesocarpo externo é o responsável pela maior parte de peso do fruto, pois foram

necessários poucos frutos para obter essa quantidade. Como os mesocarpos externo e interno se oxidam rapidamente, procurou-se trabalhar o mais rápido possível para evitar a oxidação. No entanto, após três horas, o mesocarpo externo, que já se encontrava no hexano, apresentava-se enegrecido.

Os extratos hexânico e clorofórmico do mesocarpo interno e da amêndoa apresentaram-se como óleos de cor alaranjada e amarelada, respectivamente. Para a constatação de que não havia água nos óleos, realizou-se o teste da chama, que consistiu em colocar um pouco do óleo em uma espátula e sob essa uma chama. Se o óleo criptasse, é porque havia água (Rocha, 1999), o que não ocorreu. Os extratos hexânicos dos mesocarpos externo e interno tiveram aromas adocicados. Por outro lado, o extrato da amêndoa teve um odor de peixe, camarão, muito forte e enjoativo, o que pode ser explicado possivelmente pela quebra de aminoácidos, pois Ferreira et al. (1988) encontraram teor elevado de proteínas na amêndoa (24 g/100g), sendo bem superior ao da polpa, que foi encontrado apenas 6,7 g/100g. Os outros extratos brutos produziram resíduos de semi-sólidos a sólidos, cujos dados de rendimentos encontram-se na Tabela 3.

TABELA 3: Rendimento dos extratos brutos de três partes dos frutos de pequi.

Extratos	Mesocarpo externo		Mesocarpo interno		Amêndoa	
	g	%	g	%	g	%
Hexânico	0,08	0,02	24,37	3,46	52,57	13,90
Clorofórmico	0,26	0,06	176,70	25,11	81,47	21,50
Acet. etila	0,20	0,04	47,83	6,80	22,06	5,80
Etanólico	3,01	0,68	13,37	1,90	5,70	1,50
Metanólico	15,12	3,40	12,35	1,75	2,05	0,50
Total	18,67	4,20	274,63	39,03	163,52	42,90

Nota-se, pelos dados da Tabela 3, que o mesocarpo externo apresentou um índice muito baixo de compostos apolares e um teor mais elevado de substâncias polares, podendo ser taninos, o que poderia explicar a rápida oxidação. Em contrapartida, o mesocarpo interno e a amêndoa apresentaram um teor elevado de substâncias lipofílicas, dados bastante coerentes com aqueles encontrados por Ferreira et al. (1988), nos quais a polpa apresentou um rendimento de 61,75 g/100g, enquanto a amêndoa mostrou 42,20g de óleo/100g de amostra. Por essa razão, o pequi é considerado uma espécie arbórea oleaginosa, como já mencionado por Macedo (1992).

4.1.3 Testes fitoquímicos preliminares

Como as quantidades de folha e de botão floral eram suficientes para a obtenção dos extratos brutos e para os testes preliminares, os mesmos foram separados para a realização dos testes, cujos resultados estão apresentados na Tabela 4

TABELA 4: Resultados dos testes fitoquímicos preliminares da folha e do botão floral do pequi.

Metabólito secundário	Folha	Botão floral
Açúcares redutores	+	+
Taninos	+	+
Flavonóides	+	+
Esteróides e triterpenóides	+	+
Cumarinas	-	-
Alcalóides	-	-
Saponinas	+	+
Antraquinonas	-	-

+: presença, -: ausência

O teste fitoquímico preliminar foi realizado com os extratos brutos e como muitos desses testes se baseiam em mudança de coloração, surgiram dificuldades em visualizar os resultados positivos. Uma das formas utilizadas para que não ocorresse o mascaramento dos resultados, foi o emprego de testes em branco, só com o extrato e outro só com o reagente. Por estas razões, uma confirmação dos resultados só ocorrerá após o fracionamento e identificação das substâncias nos extratos analisados.

Apesar de esses testes serem uma análise preliminar da composição química dos extratos, sendo apenas um indicativo da ausência ou presença de determinados compostos, pode-se perceber que não houve surpresa ao encontrar a presença de taninos nas folhas, pois tais compostos foram mencionados como presentes nas cascas e folhas do pequi por Brasil (1985) e Silva Filho (1992). A ausência de alcalóides parece verificável, até certo ponto, pelo fato de não haver relatos de casos de intoxicação ou presença de substâncias tóxicas nas folhas e botões florais. A presença de açúcares redutores é justificável, pois vários açúcares comuns nas plantas têm essa característica como, glicose, frutose, xilose, maltose, entre outros. Esses açúcares fazem parte do metabolismo primário das plantas, mas podem fazer parte da estrutura dos compostos secundários também, principalmente na forma de heterosídeos, nos quais uma parte é constituída por um açúcar ou ose e a outra parte por um grupamento ativo, como flavonóide, saponina e outros.

A detecção de flavonóides e saponinas parece bem coerente com outros dados anteriormente comentados (item 4.1.2), nos quais verificou-se uma maior presença de substâncias polares nas folhas e botões florais, já que os flavonóides são compostos bastante polares devido a presença de vários grupos hidroxilas em sua estrutura. Além do mais, esse grupo de compostos tem ampla distribuição no reino vegetal, atuando, principalmente, como pigmentos, possibilitando um maior entendimento do uso das folhas e cascas do pequi na

tinturaria, por meio de corantes amarelos, como já foi estudado por Brasil (1985) e Silva Filho (1992), mostrando coesão com a utilização popular. Os esteróides e triterpenóides, apesar de serem substâncias apolares, fazem parte da estrutura de outros compostos polares, como as saponinas, por exemplo.

4.1.4 Fracionamento e caracterização do extrato

O extrato metanólico do mesocarpo externo do fruto do pequi foi selecionado para se fazer o fracionamento e caracterização, por não terem sido encontradas, na literatura consultada, citações sobre seu estudo químico. Além disso, ele é descartado como um resíduo, já que as partes utilizáveis do fruto, devido às várias propriedades já comentadas, são a polpa e a amêndoa.

A eluição desse extrato iniciou-se com o hexano. No entanto, observou-se que, somente em presença do ácido acético, a mancha que se formou no topo da coluna se deslocou, sendo totalmente arrastada por esse eluente. Após isso, a água foi responsável pela limpeza da coluna, arrastando os últimos resíduos verificáveis. Depreende-se, então, que as frações obtidas apresentam substâncias de alta polaridade, o que é bem condizente, por se tratar de um extrato metanólico.

As frações A, B, C e D (Figura 4), advindas da reunião das frações obtidas na CLC, tiveram um comportamento semelhante na segunda CLC, na qual as manchas só começaram a ser arrastadas do acetato de etila e ácido acético, mantendo o caráter altamente polar.

De todas as frações, as frações D₆ e D₈ apresentaram, cada uma, uma mancha, em CCD, bem característica, mas que se apresentava impura. O melhor eluente para D₆ foi acetona/metanol (8:2), no qual apresentava uma mancha que

ficava branca durante a revelação na atmosfera de iodo. Isso pode indicar tratar-se de uma substância que reagia com o iodo, caracterizando um tiol, aldeído ou uma dupla conjugada ativada. Para D₈, foi utilizado o eluente acetona/metanol (3:7). Após várias tentativas de separação em CCD preparativa, as mesmas encontravam-se com índices pequenos de impurezas, com D₆ apresentando uma mancha, cujo valor de R_f foi de 0,40 e D₈ revelando uma mancha, cujo R_f foi 0,33.

Os espectros de infravermelho de D₆ e D₈ (Figuras 6 e 7) são similares, apresentando os seguintes sinais: uma banda larga em torno de 3.500 cm⁻¹, atribuída ao estiramento da ligação O - H sobrepostos com estiramento da ligação C - H de grupos metilas (-CH₃), metilênicos (-CH₂) e metínicos (-CH) presentes; um pico em torno de 1.716 cm⁻¹ e a banda larga em 1.230 cm⁻¹, indicando tratar-se de mesmas substâncias ou compostos com mesmos grupos funcionais, embora observa-se uma diferença quantitativa nessa banda, já que esta é mais acentuada na fração D₆.

O pico centrado em 1.716 cm⁻¹ indica a presença de carbonila (C = O) que poderá ser de um ácido carboxílico, devido à presença da banda típica de OH em 3.560 cm⁻¹. Apesar do pico característico dos ácidos ser em torno de 1.760 cm⁻¹, a formação de ligações de hidrogênio e a existência de ressonância enfraquece a ligação C = O, resultando disso uma absorção mais baixa do que para o monômero. Assim C = O de ácidos alifáticos saturados diméricos aparece na região de 1.720 - 1.706 cm⁻¹. Além do mais, o sinal em 1.230 cm⁻¹ pode se referir a deformação axial C - O de ácidos carboxílicos diméricos. A banda em 1.683 cm⁻¹ pode ser atribuída à deformação axial da ligação C = C de olefinas não conjugadas (Silverstein, Bassler e Morrill, 1994).

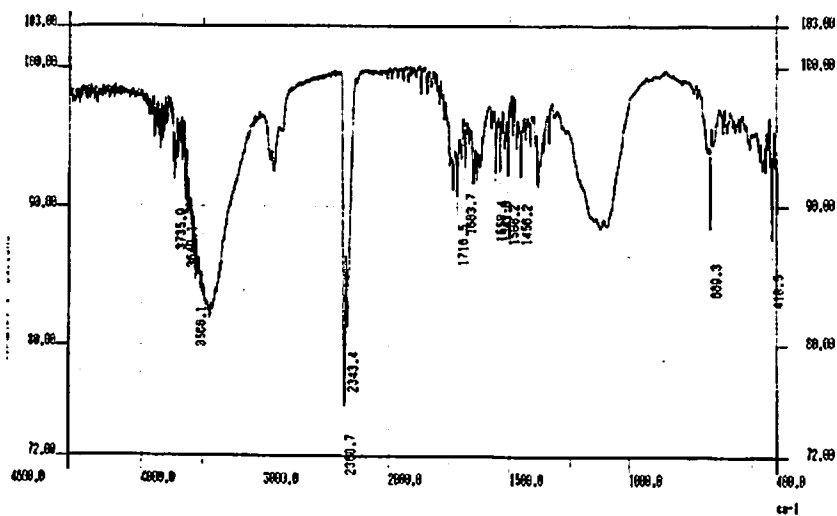


FIGURA 6: Espectro de infravermelho da amostra D₆.

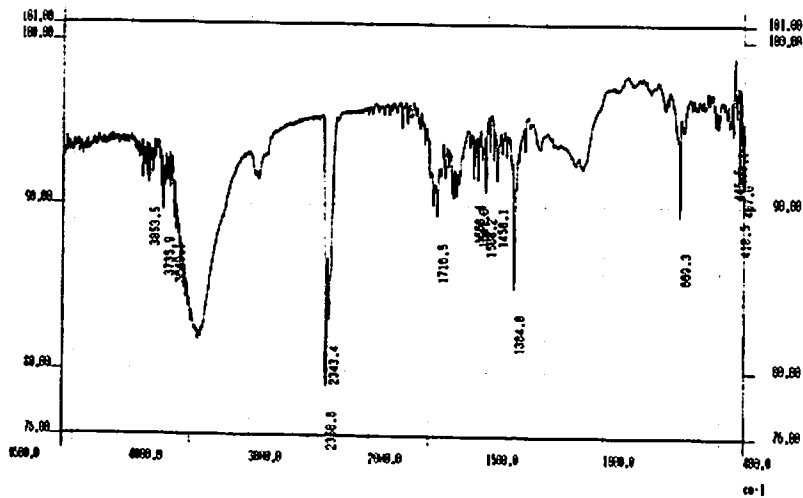


FIGURA 7: Espectro de infravermelho da amostra D₈.

A fração D₉ foi recristalizada em etanol a quente, obtendo-se 12 mg de resíduos com as seguintes características: cristais muito pequenos e brancos, que se decompunham a $45 \pm 2^\circ\text{C}$. Não foi possível sua detecção em CCD. O espectro de infravermelho da substância D₉ (Figura 8) apresenta-se bem diferente em relação aos espectros das amostras D₆ e D₈. As absorções importantes são representadas pelos sinais em 1.683 e 1.622 cm^{-1} , característicos de carbonila. Essa faixa é típica do estiramento da ligação $\text{C} = \text{O}$ em amida, denominada de banda de amida I. Adicionalmente, as amidas primárias, secundárias e lactamas mostram uma ou mais de uma banda na região de $1.650 - 1.515\text{ cm}^{-1}$, devido à deformação angular de NH_2 ou NH , chamada de banda de amida II. Outro fator relevante na elucidação é a banda larga em 3.400 cm^{-1} , podendo ser da deformação axial do NH livre de amidas secundárias. Os picos em 1.141 e 1.099 cm^{-1} podem ser devido à vibração da deformação axial do sistema $\text{C} - \text{O} - \text{C}$ de éteres (Silverstein, Bassler e Morrill, 1994).

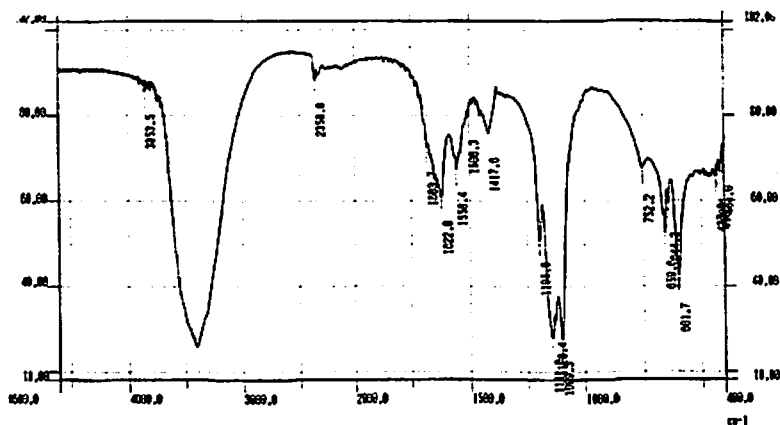


FIGURA 8: Espectro de infravermelho da substância D₉.

4.2 Obtenção e caracterização dos óleos essenciais

Procurou-se avaliar o teor e caracterizar quimicamente o óleo essencial do botão floral e do mesocarpo interno do fruto, pois, devido aos seus aromas naturais, acreditou-se que esses materiais poderiam apresentar essências em sua composição.

O óleo essencial do botão floral apresentou um rendimento, em peso, de 0,06%. A folha de pequi apresentou, segundo dados de Paula et al. (2000), teor de 0,003% de óleo essencial. Esses dois fatos vêm demonstrar que o pequi apresenta baixos índices de essência em seus órgãos, não se caracterizando, portanto, como uma planta aromática.

No espectro de infravermelho do botão floral (Figura 9), observa-se a presença de dois picos centralizados em 1.783 e 1.716 cm^{-1} , característicos de carbonila (C = O), podendo ser de ácidos carboxílicos, embora a banda correspondente de OH esteja fraca em torno de 3.500 cm^{-1} , ou de outros compostos como ésteres. Em torno de 1.683 a 1.635 cm^{-1} , têm-se inflexões que podem caracterizar a presença de duplas ligações não conjugadas. Os sinais em 1.261 a 1.020 cm^{-1} podem ser decorrentes do estiramento das ligações C - O de álcoois primários, secundário ou terciários. As bandas entre 1.683 e 1.470 cm^{-1} , a presença de harmônicos na faixa de 2.000 - 1.800 cm^{-1} e uma absorção bem definida em 800 cm^{-1} poderão indicar a ligação C = C de um aromático para-substituído (Silverstein, Bassler e Morrill, 1994).

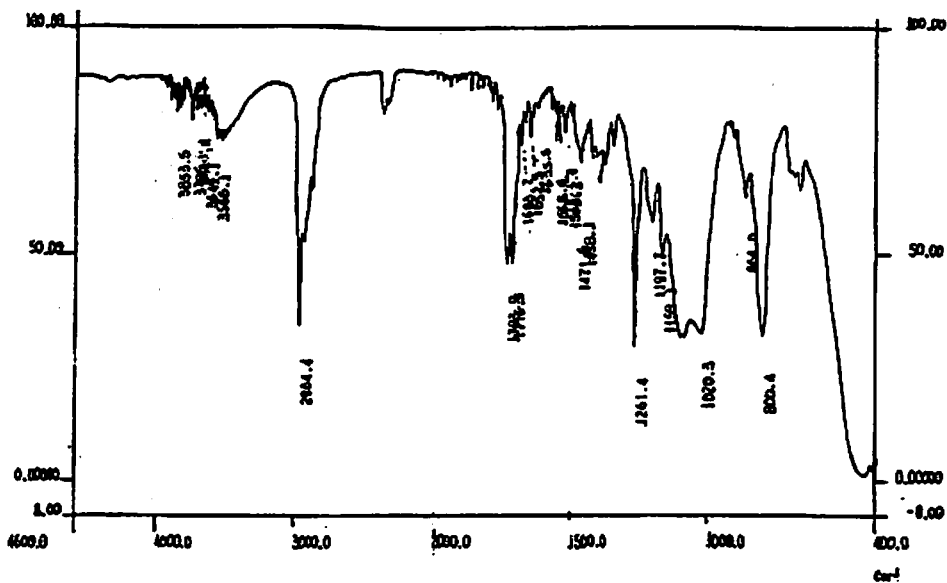


FIGURA 9: Espectro de infravermelho do óleo essencial do botão floral do pequi.

No cromatograma desse óleo (Figura 10), treze substâncias diferentes foram encontradas e determinadas, segundo o banco de dados do CG-EM, nas substâncias que constam na Tabela 5. De modo geral, verifica-se que os compostos são terpenos, mais especificamente sesquiterpenos, conjuntamente com as funções álcool, cetona, ácido carboxílico e ésteres. Esses dados podem ser constatados também no infravermelho do óleo que mostrou bandas de carbonilas, álcool e olefinas.

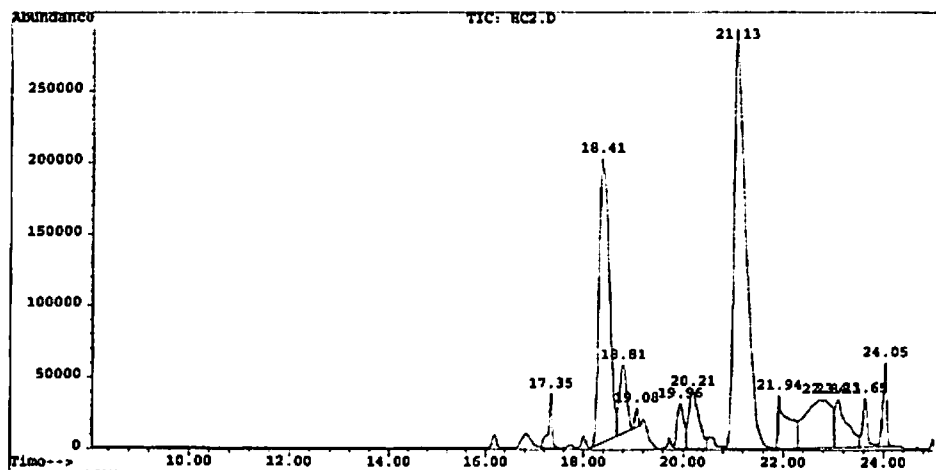


FIGURA 10: Cromatograma do óleo essencial do botão floral do pequi.

Observando-se os dados da Tabela 5, constata-se que o óleo essencial do botão floral apresentou duas substâncias majoritárias que correspondem, juntas, a 62% do teor total, sendo que o composto eudesmol (Figura 11) apresenta-se com 39% e as substâncias beta-elemene (Figura 12- I) ou trans-cariofileno (Figura 12 - II) correspondendo a 23%. No entanto, estas duas últimas só poderão ser confirmadas pelo do espectro de massa do pico. As outras duas substâncias são o ácido propanóico e o butanoato de butila e a quinta substância de maior teor, correspondendo ao pico 20,21, representando um teor de 4,56%, poderá ser calarene, hedicariol ou elemol, cujas estruturas necessitam ainda ser determinadas, para uma melhor análise do espectro de massa.

TABELA 5: Substâncias majoritárias do óleo essencial do botão floral sugeridas pelo CG-EM.

Rt	Área (%)	Banco de dados	Referência	Probabilidade
21,12	39,18	Beta-eudesmol	45034	91
		Eudesmol	45032	83
		Eudesmol	129911	83
18,42	23,46	(-)-beta-elemene	36668	43
		trans-cariofileno	128692	38
		trans-cariofileno	128686	35
22,46	9,97	Ácido 2-metilpropanóico	129455	64
		Butanoato de hexila	126187	33
		Butanoato de hexila	126185	35
23,11	4,59	Ácido 2-metilpropanóico	129455	59
		Butanoato de hexila	122897	42
		2,2-diisobutirato pentan-1,3-diol	69173	38
20,21	4,56	Calarene	128759	86
		Hediciariol	44977	83
		Elemol	129878	72
21,94	4,35	Ácido 2-metil, 3-hidroxipropanóico	129454	45
18,81	3,98	Cis-farnesol	44953	38
		5,10-pentacadien-1-ol (Z,E)	46003	35
		2,2-dimetil-3-metileno-5-oxabicyclo	19500	35
24,04	2,48	3-methyl 2-ciclohexen-1-ona	8944	38
		spiro[4,5]decan-6-ona	137773	27
		2-(3-bromopropil)ciclohexanona	42561	25
23,66	1,95	Beta-citronelol	124532	38
		Beta-citronelol	124533	38
		E6-dodecenilacetato	46801	35

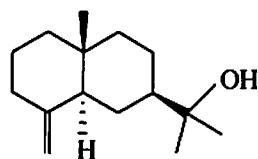


FIGURA 11: Estrutura do eudesmol.

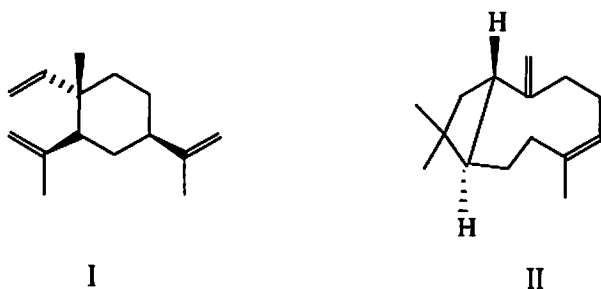


FIGURA 12: Estruturas do beta-elemene (I) e trans-cariofileno (II).

O pico com valor de retenção (Rt) 21,94 representa, de acordo com o banco de dados do CG-EM, o composto ácido-2-metil, 3-hidroxi-propanóico, PM = 104 (Figura 13), estando presente em 4,35% do total do óleo essencial (Tabela 5). O seu espectro de massa (Figura 14) possibilita uma maior confirmação, pois, tratando-se de uma substância que possui duas funções orgânicas básicas: ácido carboxílico e álcool primário, o seu espectro teria picos correspondentes a quebras dessas duas funções. Assim, o ponto 89 poderia ser explicado pela quebra da ramificação metila (M-15). O pico de Rt = 71 seria decorrente da perda de $-CH_3$ e H_2O , característico em álcoois contendo grupos metila ramificado. Já o fragmento 73 decorreria da perda $-CH_2OH$, enquanto que

o pico $R_t = 56$ seria da saída de um grupamento $-CH_3$ e H_2O , partindo do fragmento m/e 89.

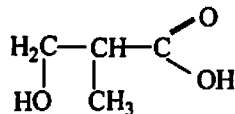


FIGURA 13: Estrutura do ácido-2-metil, 3-hidroxi-propanóico.

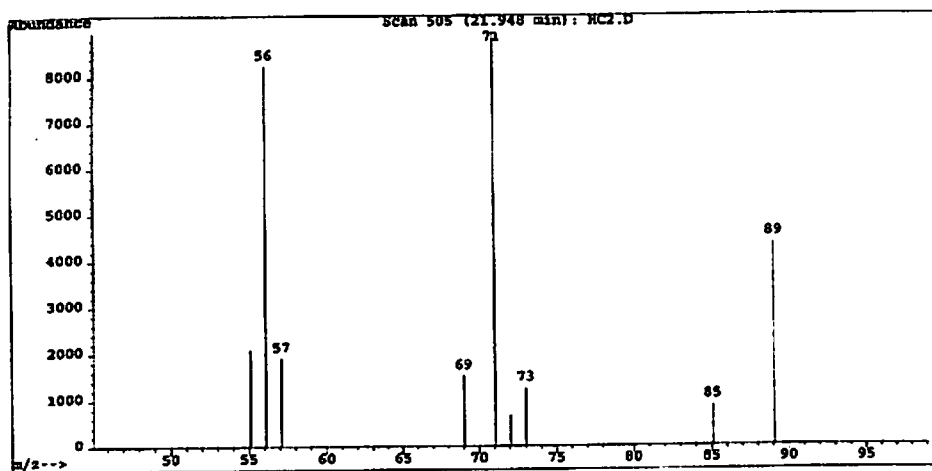


FIGURA 14: Espectro de massa do pico $R_t = 21,95$.

Em relação ao pico $R_t = 18,81$, o banco de dados nomeou o *cis*-farnesol, $PM = 222$ (Figura 15 -I) ou 5,10 (Z,E)-pentacadien-1-ol, $PM = 224$ (Figura 15 -II). Porém, o espectro de massa desse pico (Figura 16) apresenta uma

característica que possibilita a confirmação de que seja do composto *cis*-farnesol: a quebra típica de álcoois contendo grupos metila ramificados, como álcoois terpênicos, mostra um pico razoavelmente forte a *M*-33, resultante da perda de $-CH_3$ e H_2O que, neste caso, seria a *m/e* 189. Os outros picos são típicos de álcoois de cadeia longa ($> C_6$), cujo espectro é dominado pela seqüência de fragmentos dos hidrocarbonetos que se caracteriza pela seqüência de fragmentos constituídos de picos afastados uns dos outros por 14 unidades de massa ($-CH_2$). O maior pico em cada aglomerado corresponde a um fragmento C_nH_{2n+1} , geralmente acompanhado por fragmentos C_nH_{2n} e C_nH_{2n-1} .

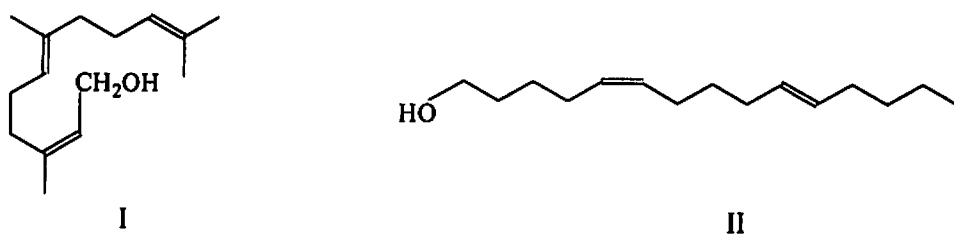


FIGURA 15: Estruturas do *cis*-farnesol (I) e 5,10-(*Z,E*)-pentacadien-1-ol (II).

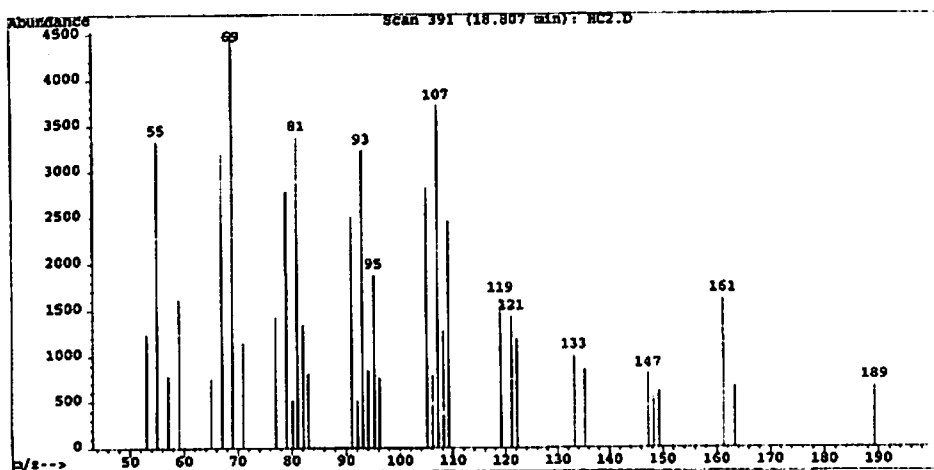


FIGURA 16: Espectro de massa do pico Rt = 18,81.

O banco de dados nomeou três possíveis estruturas para o pico Rt = 24,04: 2-cicloexen-1-ona, 3-metil, o-m (PM = 110); spiro [4.,5] decan-6-ona (PM = 152) e 2-(3-bromopropil)- cicloexanona (PM = 218,9) (Figura 17). Entretanto, o espectro de massa (Figura 18) está indicando ser um composto halogenado, com a presença de bromo, devido a presença de picos com seqüências $M + 2$, $M + 4$, decorrentes da presença dos isótopos mais pesados de bromo. O fragmento m/e 139 poderia ser devido à quebra e perda de bromo (79,9) e os picos m/e 79, 81 e 83 seriam do fragmento Br^+ . O pico m/e 55 seria devido ao rearranjo do hidrogênio, havendo formação de um radical secundário, com, fragmentação da ciclohexanona, em seguida (Figura 19).

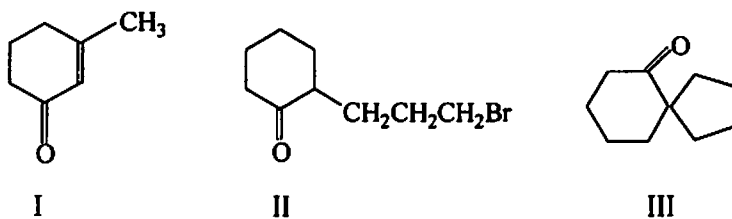


FIGURA 17: Estruturas da 2-cicloexen-1-ona, 3-metil, o-m (I); 2-(3-bromopropil)-cicloexanona (II) e spiro [4,5]decan-6-ona (III).

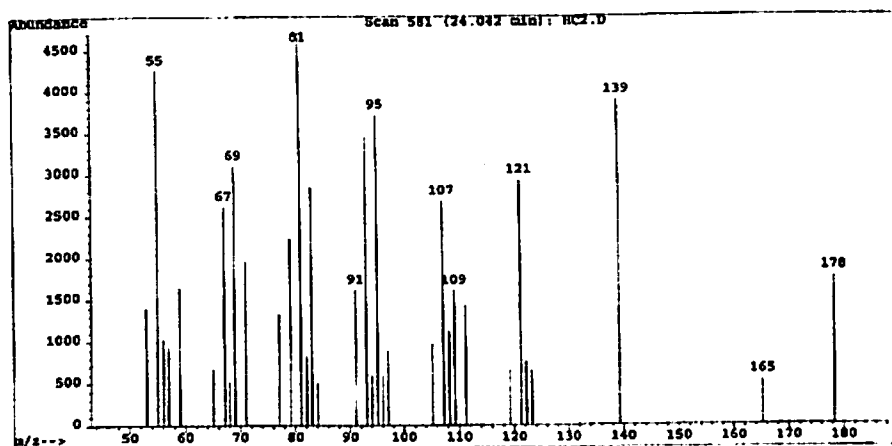


FIGURA 18: Espectro de massa do pico Rt = 24,04.

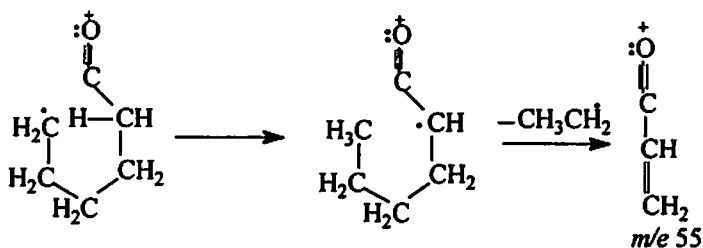


FIGURA 19: Rearranjo da cicloexanona.

O óleo essencial do mesocarpo interno do fruto do pequi apresentou um rendimento, em peso, de 0,09%. Esse valor está muito próximo daquele verificado por Paula et al. (2000), que encontraram 0,095% de óleo essencial das sementes de pequi durante a estação seca, considerando como semente do fruto o mesocarpo interno junto com endocarpo espinhoso e a amêndoa. O valor encontrado neste trabalho permitiu inferir que o mesocarpo interno, mais conhecido como a polpa do pequi, apresenta um maior teor de óleos fixos, denominados de modo geral de lipídios, do que de óleos voláteis. Esta dedução foi baseada nos dados de Barradas e Handro (1971), que demonstraram que o fruto apresentou um rendimento em óleo de 5% a 6%, com a predominância dos ácidos graxos saturados (palmítico - 39%) e monoinsaturados (oléico - 51% a 54%). Os trabalhos de Ferreira et al. (1988) constataram também que a polpa apresentou teor de óleo de 61,79 g/100g. Ressalte-se, ainda, que obteve-se, nesse experimento, um alto rendimento em óleo dos extratos hexânico com 3,46%, clorofórmico - 25,11% e em acetato de etila com 6,80% da polpa (item 4.1.2).

O cromatograma do óleo essencial da polpa do pequi (Figura 20) apresentou 25 substâncias químicas diferentes. Há uma grande variedade de funções químicas, tendo sido encontrados: terpenos, ácidos graxos, entre outros.

Os dados na Tabela 6 mostram as possíveis substâncias majoritárias, nomeadas pelo banco de dados do CG-EM. Observa-se que um dos compostos majoritários é o ácido hexanóico, com 18,44% do total e uma outra substância não possível de identificar completamente com 27,42%. As duas substâncias correspondem a apenas 46% do total, sendo o restante subdividido em pequenas parcelas pelas outras substâncias. Percebe-se, então, uma diferenciação em relação ao óleo essencial do botão floral, no qual houve um menor número de substâncias e com apenas duas perfazendo a maior concentração do óleo. Procurando confirmar as substâncias, os espectros de massa de alguns picos importantes foram analisados.

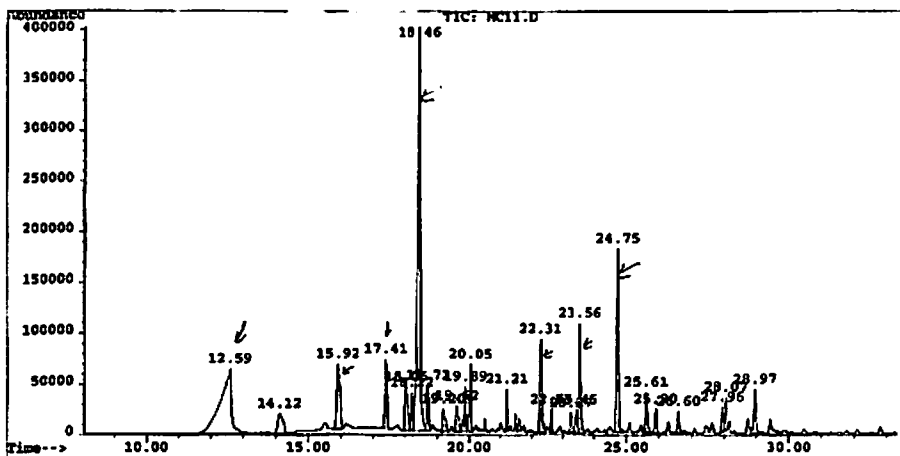


FIGURA 20: Cromatograma do óleo essencial do mesocarpo interno do fruto de pequi.

TABELA 6: Substâncias majoritárias do óleo essencial do mesocarpo interno sugeridas pelo CG-EM.

Rt	Área (%)	Banco de dados	Referência	Probabilidade
18,46	27,42	5-octen-4-ona,7-metil	122472	17
		1H-pirrol-2,5-diona	117632	17
12,60	18,44	Ácido hexanóico	119466	83
27,74	7,53	(-)-beta-elemene	128665	86
15,92	5,52	2-cicloexen-1-ona,3,5,5-trimetil	122269	78
17,41	3,72	Octanoato de etila	126173	90
14,12	2,48	1,8-cineol	124344	83
		1,8-cineol	124347	64
		1,8-cineol	14767	55

O pico de retenção (Rt) 12.60 foi indicado como sendo da substância ácido hexanóico (PM = 116) (Figura 21), com 83% de probabilidade, de acordo com a Tabela 6. O seu espectro de massa (Figura 22) apresenta pontos que permitem uma maior confirmação desse dado. O fragmento mais característico desse tipo de substância (podendo ser, às vezes, o pico base) ocorre a *m/e* 60, formado pelo rearranjo de McLafferty (Figura 23), fato que é realmente bastante perceptível no espectro. Em ácidos de cadeia longa, o espectro consiste em duas séries de picos que resultam da quebra de cada ligação C - C, com retenção da carga pelo fragmento contendo oxigênio (*m/e* 45, 59, 73, 87 ...) ou pelo fragmento alquila (*m/e* 29, 43, 57, 71, 85 ...) (Figura 24), fatos também observados no espectro.

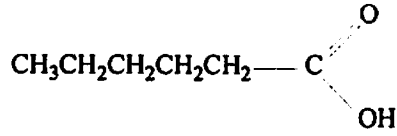


FIGURA 21: Estrutura do ácido hexanóico.

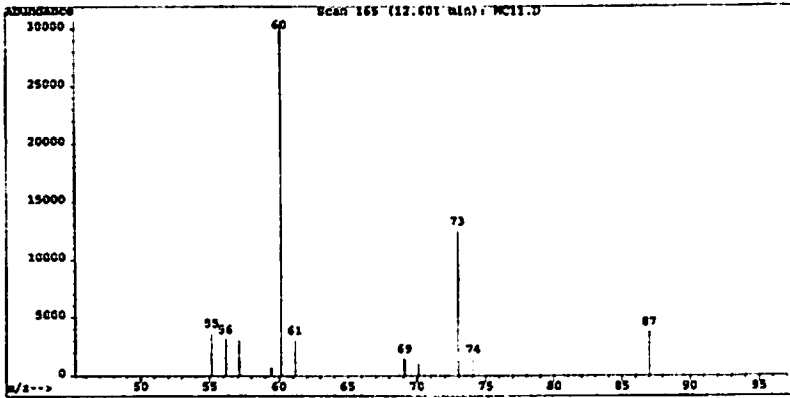


FIGURA 22: Espectro de massa do pico Rt = 12,60.

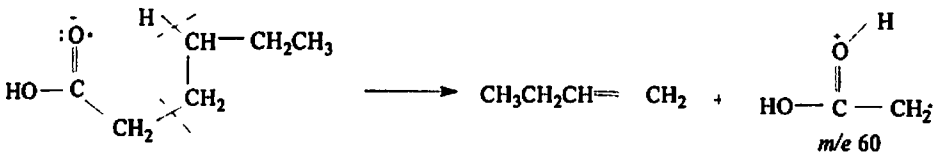


FIGURA 23: Rearranjo de McLafferty.

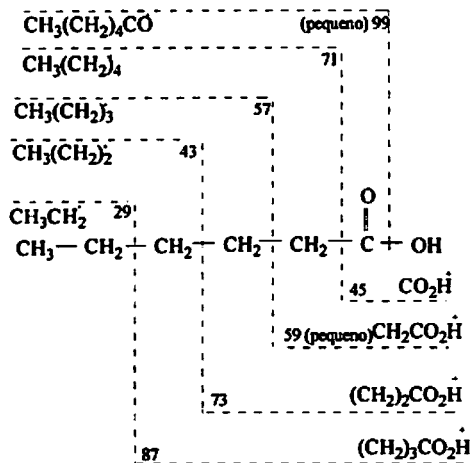


FIGURA 24: Pontos de quebra da ligação C - C de ácidos carboxílicos de cadeia longa.

O pico $R_t = 27,74$ foi indicativo, com 86% de probabilidade (Tabela 6), ser a substância β -elemene (Figura 12-I), de peso molecular 204. A existência de um anel saturado de hidrocarboneto provoca um aumento da intensidade relativa do pico do íon molecular, no espectro de massa (Figura 25). A característica marcante de um espectro desse tipo de substância é a seqüência de fragmentos constituídos de picos afastados uns dos outros por 14 unidades de massa, correspondendo aos fragmentos $-\text{CH}_2$. O maior pico em cada aglomerado corresponde a um fragmento $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$, geralmente acompanhado por fragmentos C_nH_{2n} e $\text{C}_n\text{H}_{2n-1}$. A presença de um pico correspondendo a $M - 15$, confirma a existência de ramificação metila.

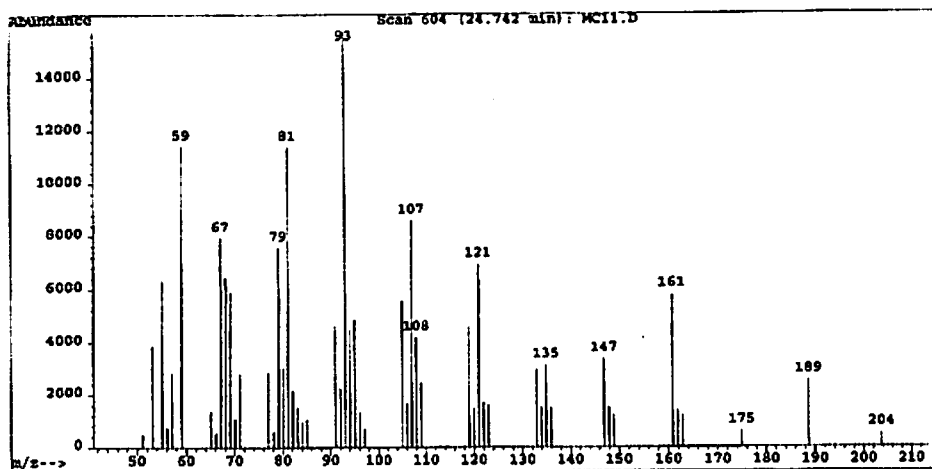


FIGURA 25: Espectro de massa do pico $R_t = 27,74$.

Em relação ao espectro de massa do pico $R_t = 15,92$, há a sugestão de ser a 2-cicloexen-1-ona,3,5,5-trimetil (Figura 26), com 78% de probabilidade (Tabela 6). As cetonas cíclicas apresentam o pico do íon molecular bastante intenso, porém, em cetonas cíclicas, o processo primário é a clivagem das ligações C - C adjacentes (ligações α) do átomo de oxigênio, permanecendo a carga com o fragmento oxigenado. Nesse caso, deveria haver um sinal, possivelmente o pico base, m/e 67 (Figura 27) e outros picos a m/e 123 e 70 também deveriam aparecer (Figura 28). Examinando-se o espectro de massa (Figura 29), não se percebeu esses picos. Assim necessitam-se de outros dados para melhor avaliar esse espectro.

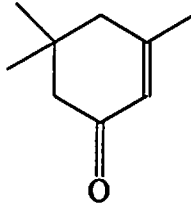


FIGURA 26: Estrutura da 2-cicloexen-1-ona, 3,5,5-trimetil (PM = 138).

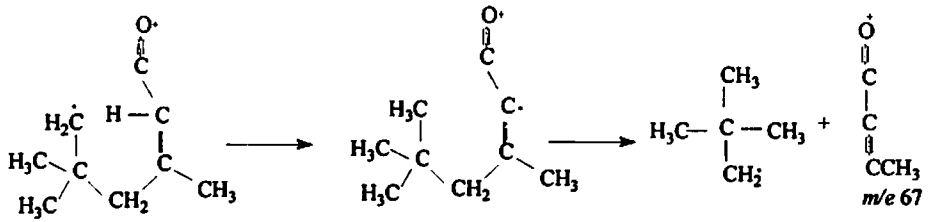


FIGURA 27: Clivagem da ligação adjacente ao grupo C = O da cicloexanona.

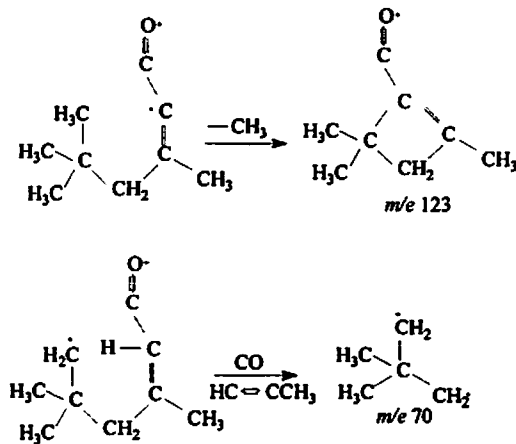


FIGURA 28: Outras quebras possíveis da cicloexanona.

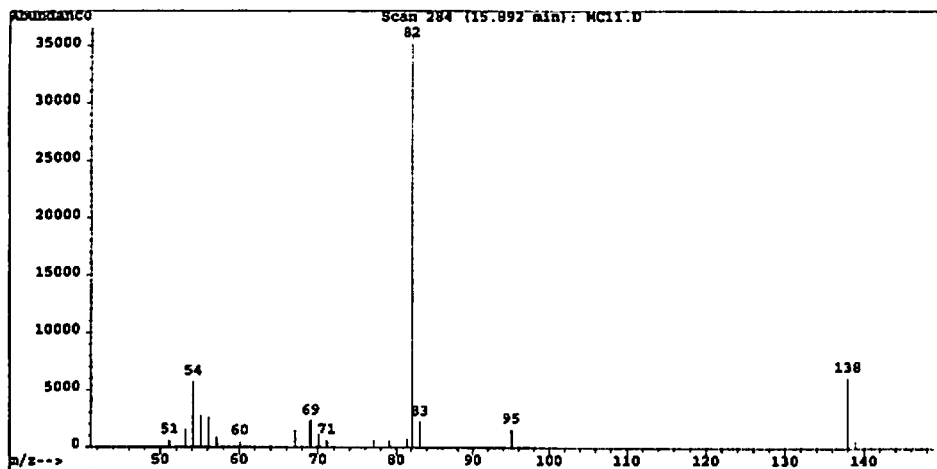


FIGURA 29: Espectro de massa do pico Rt = 15,92.

Apesar do pico Rt = 18,46 corresponder ao da substância majoritária que se encontra no óleo essencial da polpa do fruto, as substâncias sugeridas não conferem muito com o espectro de massa desse pico. A 5-octen-4-ona,7-metil (Figura 30 - I) e 1H-pirrol-2,5-diona (Figura 30 - II) possuem pesos moleculares de 139 e 99, respectivamente e, no espectro de massa (Figura 31), no entanto, aparecem fragmentos a m/e 149. Assim, são necessárias outras análises para uma completa definição dessa substância.

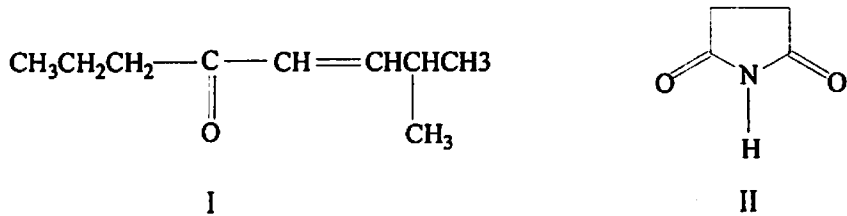


FIGURA 30: Estruturas da 5-octen-4-ona, 7-metil (I) e 1H-pirrol-2,5-diona (II).

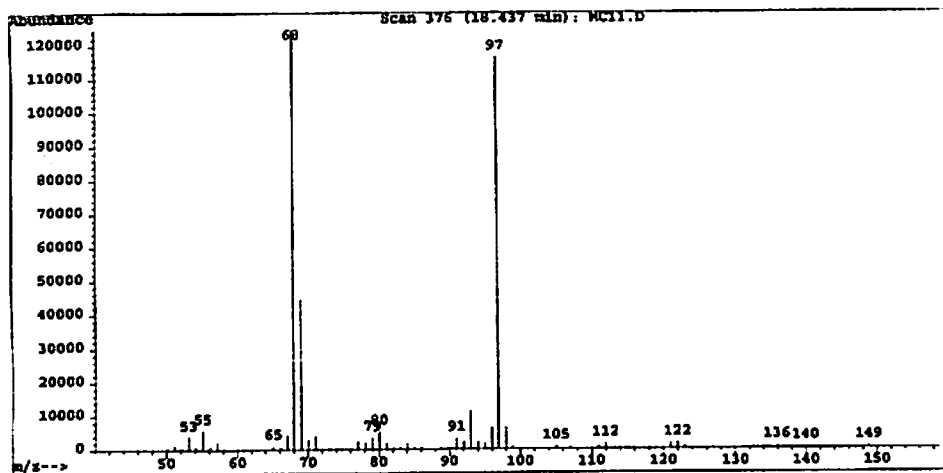


FIGURA 31: Espectro de massa do pico Rt = 18,4.

4.3 Atividade biológica

4.3.1 Teste de solubilidade dos extratos

Para a realização dos biotestes foi necessário conhecer os possíveis solventes em que os extratos são solúveis para poder optar pelo melhor, de acordo com os fatores: disponibilidade, preço, entre outros. Esses dados constam na Tabela 7.

TABELA 7: Solubilidade dos extratos hexânico (EH), clorofórmico (EC), em acetato de etila (EAE), etanólico (EE) e metanólico (EM) da folha (FL), botão floral (BF), do mesocarpo externo (ME) e do mesocarpo interno (MI) do fruto de pequi.

Solventes	EH		EC		EAE		EE		EM			
	FL	BF	FL	BF	FL	BF	FL	BF	FL	BF	ME	MI
Hexano	S	S	PS	S	PS	I	I	I	I	I	I	I
Clorofórmio	S	S	S	S	PS	I	PS	I	I	I	I	I
Acet. etila	S	PS	PS	S	PS	PS	PS	PS	I	I	I	I
Etanol	PS	I	PS	PS	I	PS	S	S	PS	S	PS	I
Metanol	PS	I	I	I	I	I	S	S	PS	S	S	S
Água	-	-	-	-	-	-	PS	PS	I	I	PS	S
DMSO	-	-	-	-	-	-	S	S	S	S	-	-
Metanol/água 1:1	-	-	-	-	-	-	S	S	PS	PS	S	S

S - solúvel; PS - parcialmente solúvel; I - insolúvel

Observando-se os dados da Tabela 7, verifica-se que, de modo geral, os extratos são solúveis nos mesmos tipos de solventes em que foram obtidos. Assim, o extrato hexânico é solúvel no hexano, enquanto que o extrato etanólico é solúvel no etanol e assim por diante.

4.3.2 Teste de fungitoxicidade dos solventes

Verificando a literatura sobre o assunto, encontram-se trabalhos que avaliaram a atividade fungitóxica de extratos de plantas, utilizando os extratos aquosos das mesmas (Laranjeira et al., 1995a,b e Barros, Oliveira e Maia, 1995). Entretanto, neste trabalho, os extratos de pequi selecionados para os biotestes, em decorrência de seu maior rendimento (Tabelas 2 e 3); foram os extratos etanólicos da folha (EFL) e do botão floral (EBF) e os extratos metanólicos da folha (MFL), do botão floral (MBF), do mesocarpo externo (MME) e mesocarpo interno (MMI) do fruto, os quais não foram solúveis em água (Tabela 7). Porém, os solventes etanol, metanol, DMSO e metanol/água 1:1 apresentaram as melhores solubilidades para os extratos citados acima e foram, portanto, empregados para o teste de germinação, diluídos em água para se diminuir o risco de toxidez.

No teste de solventes sobre a germinação de conídios da espécie *Botrytis cineria* obteve-se o seguinte resultado, expresso em porcentagem de germinação de conídios: T₁ (testemunha) - 91,5%; T₂ (solvente metanol/água - 1:1) - 88,4%; T₃ (solvente metanol/água 1:2) - 82%; T₄ (solvente DMSO/água 1:1) - 0%; T₅ (solvente DMSO/água 1:2) - 0%; T₆ (solvente etanol/água 1:1) - 72,2% e T₇ (solvente etanol/água 1:2) - 80,5%.

Esses resultados mostraram que o melhor solvente, em termos de menor toxicidade para o fungo, foi metanol/água (1:1) com um ótimo nível de germinação, seguido de etanol/água.

Observa-se que o etanol tem sido muito utilizado em testes de germinação e crescimento micelial, como nos trabalhos de Ferracini e Melo (1990) e Santos (1996), indicando que este solvente realmente não tem apresentado efeito maléfico aos fungos de modo geral. Já o metanol não tem sido muito utilizado em testes de fungitoxicidade de extratos de plantas, a exceção do trabalho de Silva (2000), que fez uso dele em seus estudos. Outro fator a considerar deste teste é que não há diferença ao aumentar a proporção de água, diluindo o solvente, mostrando que a fungitoxicidade não é um fator inerente do próprio solvente. Por outro lado, o solvente DMSO mostrou, mesmo diluído em água, ser um solvente muito tóxico ao inibir completamente a germinação dos conídios. Esse dado mostra-se contrário aos estudos de Moraes et al. (1999), que utilizaram DMSO/metanol como solubilizante dos extratos das plantas estudadas. Porém, os trabalhos desses autores foram desenvolvidos em crescimento micelial, permitindo inferir que esse solvente apresenta uma toxicidade aguda, tendo grande efeito na germinação, já que a avaliação do crescimento micelial ocorre durante dias, permitindo que o fungo possa criar formas de superar essa toxicidade.

Ressalte-se que outros solventes têm sido usados em biotestes de plantas, como clorofórmio, hexano e acetona, como nos trabalhos de Catarino et al. (1988) e Santos (1996). Todavia, esses solventes não foram testados pela razão de os extratos de pequi para os biotestes não serem solúveis nos mesmos.

Por essas razões, o solvente metanol/água (1:1) foi o escolhido como o ideal para solubilizar os extratos para os biotestes, devido a duas razões básicas: não foi tóxico para os fungos, não interferindo na análise dos efeitos dos extratos e teve a capacidade de solubilizar a maioria dos extratos utilizados nos biotestes.

4.3.3 Efeito dos extratos brutos sobre a germinação de esporos

4.3.3.1 Extratos etanólicos

Pela análise fatorial 2x2x4 (dois extratos: folha - EFL e botão floral - EBF; duas espécies de fungos: *Botrytis cineria* - Bc e *Colletotrichum truncatum* - Ct e quatro concentrações: C1 - testemunha, C2 - solvente metanol/água 1:1, C3 - extratos a 100 mg/L e C4 - extratos a 500 mg/L), verificou-se que o solvente metanol/água 1:1 apresentou uma média de germinação superior ao da testemunha (Tabela 8). Porém, pelo teste de Tukey, a 5%, não foi possível diferenciar C2, C3 e C4 (Tabela 8). Entretanto, pelo teste T, C2 foi estatisticamente diferente de C3 a 5%, enquanto que C3 e C4 não apresentaram diferenças significativas. Por esses resultados, pode-se inferir que os extratos solubilizados no solvente metanol/água 1:1, nas concentrações de 100 e 500 mg/L, apresentaram um efeito estimulante sobre a germinação de esporos das duas espécies estudadas, superando o efeito do solvente (Figura 32).

Os extratos etanólicos da folha (EFL) e do botão floral (EBF) mostraram diferenças significativas, indicando que o extrato etanólico do botão floral (EBF) apresenta um efeito mais elevado sobre a germinação de esporos das espécies *Botrytis cineria* (Bc) e *Colletotrichum truncatum* (Ct).

Por essa análise fatorial, as referidas espécies de fungos não apresentaram diferenças significativas em relação à germinação de esporos.

TABELA 8: Médias das porcentagens de germinação das espécies de fungos *Botrytis cineria* (Bc) e *Colletotrichum truncatum* (Ct) em função dos extratos brutos etanólicos da folha (EFL) e botão floral (EBF) e das concentrações C1 (testemunha), C2 (solvente metanol/água 1:1), C3 (extratos a 100 mg/L) e C4 (extratos a 500 mg/L).

Extrato	Fungo	Concentração				Média
		C1	C2	C3	C4	
EFL	Bc	57,1	51,2	85,7	91,6	71,4
	Ct	27,8	81,8	76,4	86,7	68,2
Média	-	42,4	66,5	81,0	89,1	69,8 b
EBF	Bc	69,2	68,9	78,1	82,0	74,5
	Ct	79,9	85,9	97,1	86,2	86,3
Média	-	72,6	77,4	87,6	84,1	80,8 a
Média	-	57,5 C	72,2 B	84,3 AB	86,6 A	-

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem significativamente entre si, segundo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

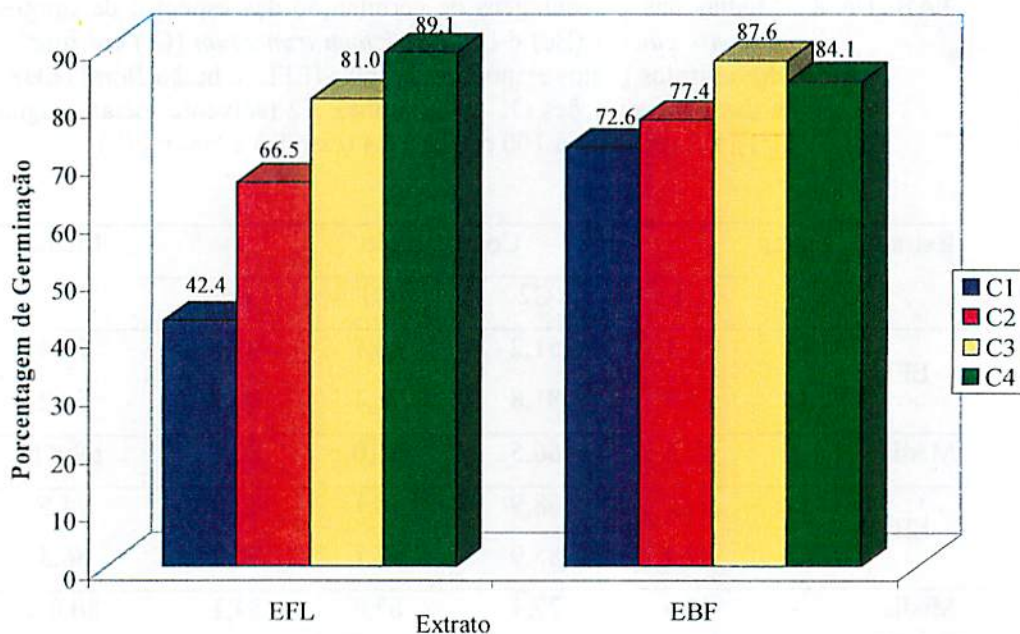


FIGURA 32: Efeito dos extratos etanólicos da folha (EFL) e do botão floral (EBF) em função da concentração C1 (testemunha), C2 (solvente metanol/água 1:1), C3 (extratos a 100 mg/L) e C4 (extratos a 500 mg/L).

4.3.3.2 Extratos metanólicos

Pela análise fatorial 4x3x4 (quatro extratos: folha - MFL, botão floral - MBF, mesocarpo externo - MME e mesocarpo interno - MMI; três espécies de fungos: *Botrytis cineria* - Bc, *Colletotrichum truncatum* - Ct e *Fusarium oxysporum* - Fo e quatro concentrações: C1 - testemunha, C2 - solvente metanol/água 1:1, C3 - extratos a 100 mg/L e C4 - extratos a 500 mg/L), verificou-se que o solvente metanol/água 1:1 apresentou uma média de

germinação de esporos inferior à da testemunha e dos extratos, tanto a 100 quanto a 500 mg/L. Observa-se, pela Tabela 9, que os extratos solubilizados nesse solvente apresentaram um nível de germinação estatisticamente semelhante ao da testemunha, mostrando o efeito estimulador desses extratos, pelo fato de os mesmos terem sido capazes de superar o efeito inibidor do solvente (Figura 33).

Em relação aos quatro extratos, apenas o extrato metanólico do botão floral (MBF) mostrou diferença significativa quanto à germinação de esporos. As três espécies de fungos apresentaram-se estatisticamente diferentes quanto ao nível de germinação, sendo que a espécie de melhor porcentagem de germinação foi a *Colletotrichum truncatum* (Ct) e como menor valor médio de germinação a espécie *Fusarium oxysporum* (Fo).

TABELA 9: Médias das porcentagens de germinação das espécies de fungos *Botrytis cineria* (Bc), *Colletotrichum truncatum* (Ct) e *Fusarium oxysporum* (Fo), em função dos extratos brutos metanólicos da folha (MFL), do botão floral (MBF), do mesocarpo externo (MME), do mesocarpo interno (MMI) e das concentrações C1 (testemunha), C2 (solvente metanol/água 1:1), C3 (extratos a 100 mg/L) e C4 (extratos a 500 mg/L).

Extrato	Fungo	Concentração				Média
		C1	C2	C3	C4	
MFL	Bc	88,4	68,5	91,3	81,7	82,5
	Ct	91,5	89,7	67,7	90,8	84,9
	Fo	70,7	59,5	71,7	58,7	65,1
Média	-	83,5	72,6	76,9	77,1	77,5 a

... continua...

TABELA 9, Cont.

	Bc	68,0	45,8	57,8	90,0	65,4
MBF	Ct	94,3	89,0	86,7	87,4	89,3
	Fo	75,8	43,4	47,6	54,5	55,3
Média	-	79,4	59,4	64,0	77,3	70,2 b
	Bc	82,5	88,3	90,4	97,2	89,6
MME	Ct	85,4	89,9	92,7	91,8	89,9
	Fo	53,8	33,8	70,5	31,7	47,4
Média	-	73,9	70,7	84,5	77,6	75,7 a
	Bc	89,2	86,7	95,3	95,7	91,7
MMI	Ct	85,4	89,9	78,9	90,4	86,1
	Fo	53,8	33,8	62,6	55,8	51,5
Média	-	76,1	70,1	78,9	80,7	76,5 a
Média	-	78,2 A	68,7 B	76,1 A	76,9 A	-

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas nas linhas e minúsculas nas colunas não diferem significativamente entre si, segundo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

4.3.4 Efeito dos extratos brutos sobre crescimento micelial

Procurando fazer a constatação definitiva de que os extratos de pequi não apresentavam efeito fungitóxico sobre os fungos fitopatogênicos das espécies estudadas, realizou-se o teste sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum truncatum*, uma vez que os outros fungos tiveram comportamentos semelhantes em relação aos extratos.

Os resultados do primeiro experimento, expressos pelo índice de crescimento micelial (ICM), foram: T₁(testemunha) - 3,0; T₂ (solvente

metanol/água 1:1) - 2,8; T₃ (extrato etanólico da folha a 500 mg/L) - 2,6; T₄ (extrato etanólico do botão floral a 500 mg/L) - 2,9; T₅ (extrato metanólico da folha a 500 mg/L) - 2,8 e T₆ (extrato metanólico do botão floral a 500 mg/L) - 2,4, cujas médias não diferiram estatisticamente pelo teste de Tukey, a 5%. No segundo experimento, os resultados também expressos pelo ICM foram: T₁ (testemunha) - 2,9; T₂ (solvente metanol/água 1:1) - 1,6; T₃ (extrato metanólico do mesocarpo externo do fruto a 500 mg/L) - 3,0 e T₄ (extrato metanólico do mesocarpo interno do fruto a 500 mg/L) - 2,4, cujas médias de T₂ e T₄ foram estatisticamente diferentes das demais pelo teste de Tukey, a 5%.

Mesmo havendo essa diferença, os extratos não apresentaram efeito inibidor da germinação, pois o extrato metanólico do mesocarpo externo apresentou um efeito semelhante ao da testemunha e o efeito do extrato metanólico do mesocarpo interno, apesar de ter apresentado um nível de germinação inferior ao da testemunha, mostrou-se semelhante ao do solvente, indicando apenas a inibição do metanol/água 1:1. Verificou-se, portanto, que os extratos não apresentaram efeito tóxico ao fungo. Esses dados confirmam que os extratos de pequi não são capazes de inibir o crescimento micelial dos fungos *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*, baseando-se no fato de que os efeitos dos extratos na germinação das três espécies de fungos foram bastante similares (item 4.3.3).

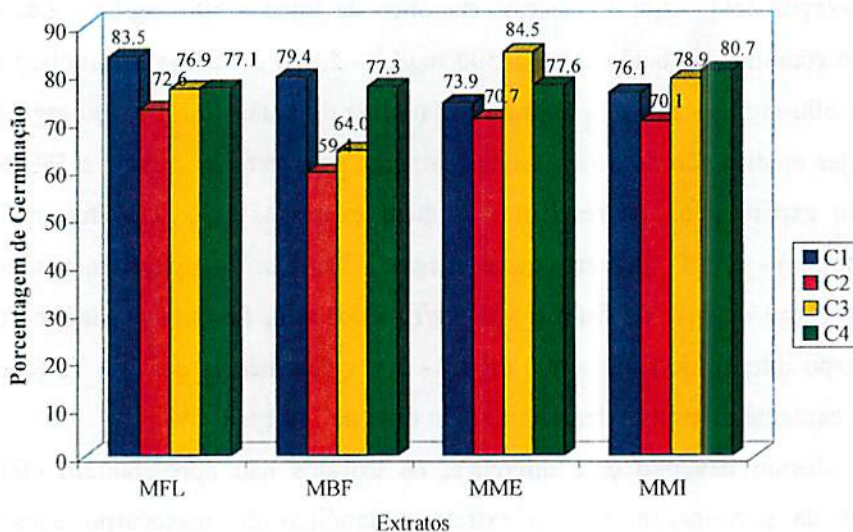


FIGURA 33: Efeito dos extratos metanólicos do botão floral (MBF), da folha (MFL), do mesocarpo externo (MME) e do mesocarpo interno (MMI) do fruto de pequi em função da concentração (C1 - testemunha, C2 - solvente metanol/água 1:1, C3 - extratos a 100 mg/L e C4 - extratos a 500 mg/L).

Em resumo, os extratos de pequi não apresentaram atividade fungitóxica, embora se esperasse que, sendo extratos etanólicos e metanólicos utilizados, estes pudessem ter apresentado algum efeito, pois esses solventes são os indicados para extrair substâncias como taninos, flavonóides e outras de caráter hidrofílico. Essas substâncias têm sido estudadas como compostos que apresentam atividades antimicrobianas, tanto bactericidas quanto fungicidas (Simões et al., 1999). A presença de taninos no pequi já foi discutida e relatada por Brasil (1985). Flavonóides e saponinas foram detectados nos testes fitoquímicos preliminares (item 4.1.3), no entanto não foram experimentalmente observadas ações fungitóxicas com os extratos de pequi. Pode-se inferir, então,

que os taninos, flavonóides e saponinas encontrados nos extratos de pequi não tenham ações fungitóxicas contra os fungos estudados, não podendo, entretanto, descartar ações contra fungos maléficos ao homem. Outro ponto a considerar é que os extratos etanólicos e metanólicos, de modo geral, tendem a apresentar açúcares, já que estes compostos são de caráter altamente hidrofílicos, o que poderia explicar a estimulação na germinação de conídios.

Mesmo havendo vários trabalhos que mostraram a excelente ação antifúngica dos mais variados extratos de plantas, comprovando que estas apresentam substâncias que atuam em sua própria defesa contra os agressores naturais, trabalhos como o de Pinto (1992) demonstrou que podem-se encontrar extratos de plantas que não apresentam essa atividade, o que pode ser dependente do tipo de solvente extrator, da parte da planta utilizada, da época da coleta, entre outros.

Mesmo que os extratos de pequi não tenham apresentado as atividades almejadas nesse experimento, o estudo botânico, químico, farmacológico e agrônômico das plantas, tidas como medicinais ou não, do Brasil, especialmente do Cerrado é muito importante. Esses estudos possibilitam o conhecimento da riqueza natural que existe nesse país, promovendo a valorização da biodiversidade e permitindo que haja conservação e utilização racional desses recursos naturais, que hoje ou amanhã poderão apresentar benefícios à população.

5 CONCLUSÕES

A folha, o botão floral e o mesocarpo externo do fruto de pequi apresentaram teores mais elevados de substâncias de caráter polar. Em contraste, o mesocarpo interno do fruto e a amêndoa apresentaram um conjunto maior de substâncias lipofílicas.

A folha e o botão floral do pequi têm, de modo geral, uma gama de metabólitos secundários semelhantes, sendo os principais: açúcares redutores, taninos, flavonóides, esteróides, triterpenóides e saponinas.

O óleo essencial do botão floral apresenta um teor de 0,06%, cujas substâncias majoritárias foram: eudesmol (39,18%), ácido 2-metil, 3-hidroxipropanóico (4,35%), cis-farnesol (3,98%) e 2-(3-bromopropil)ciclohexanona (2,48%).

O mesocarpo interno possui um teor (0,09%) de óleo essencial bem inferior ao de óleos fixos. A composição deste óleo essencial foi: ácido hexanóico (18,44%), β - elemene (7,53%), octonoato de etila (3,72%) e 1,8-cineol (2,48%).

Os extratos etanólicos da folha e botão floral e os extratos metanólicos da folha, botão floral, mesocarpos externo e interno do fruto não apresentaram atividade fungitóxica contra os fungos *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADÁMOLI, J.; MACEDO, J.; AZEVEDO, L.G.; MADEIRA NETTO, J. Caracterização da região dos cerrados. In: GOEDERT W.J. (ed.). **Solos dos cerrados: tecnologias e estratégias de manejo**. São Paulo: Nobel, 1986. p.33-74

ALHO, C.J.R.; MARTINS, E.S. **De grão em grão o cerrado perde espaço**. Brasília: WWF/PRO-CER, 1995. 66p.

ALMEIDA JR, J.M.G. de. Uma proposta de ecologia humana para o cerrado. In: PINTO, M.N. (org.). **Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas**. 2.ed. rev. e atual. Brasília: Universidade de Brasília, 1993. p.569-583.

X ALMEIDA, S.P.; PROENÇA, C.E.B.; SANO, S.M.; RIBEIRO, J.F. **Cerrado: espécies úteis**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1998. p.106-112.

ALMEIDA, S.P.; SILVA, J.A. da. **Pequi e buriti - importância alimentar para a população dos cerrados**. Planaltina: EMBRAPA-CPAC, 1994. 38p.

ARAÚJO, A.E. de. **Sobrevivência de *Botrytis cineria* em restos de cultura, efeito de fatores do ambiente sobre o patógeno e progresso do mofo cinzento em roseiras cultivadas em casas de vegetação**. Viçosa: UFV, 1995. 98p. (Dissertação - Mestrado em Magister Scientiae).

AZEVEDO, T. **Plantas medicinais, benzeduras e simpatias**. São Paulo: Global, 1987. p.87-96.

BALANDRIN, M.F.; KLOCKE, J.A. Medicinal, aromatic and industrial material from plants. In: BAJAJ, Y.P.S. (ed.) **Biotechnology in agriculture and forestry**. Berlin: Springer Verlag, 1988. v.4, p.3-36.

BARRADAS, M.M.; HANDRO, W. Sobre os óleos do fruto e da semente do piqui - *Caryocar brasiliense* Camb. (Caryocaraceae). In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO, 3., 1971, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Blucher/USP, 1971. p.110-113.

BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M. A utilização do safrol, principal componente químico do óleo de sassafráz, na síntese de substâncias bioativas na cascata do ácido araquidônico: antiinflamatórios, analgésicos e anti-trombóticos. *Química Nova*, São Paulo, v.22, n.5, p.744-759, jul./ago. 1999.

BARROS, S.T.; OLIVEIRA, N.T. de; MAIA, L.C. Efeito do extrato de alho (*Allium sativum*) sobre o crescimento micelial e germinação de conídios de *Curvularia* spp. e *Alternaria* spp. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v.21, n.2, p.168-170, 1995.

BENNETT, R.N.; WALLSGROVE, R.M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist*, v.127, n.4, p.617-633, 1994.

X BRANDÃO, M.; CARVALHO, P.G. da S.; JESUÉ, G. **Guia ilustrado de plantas do cerrado de Minas**. Belo Horizonte: CEMIG, 1992. 78p.

BRASIL. Ministério da Indústria e do Comércio. Secretaria de Tecnologia Industrial. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Brasília: STI/CTI, 1985. p.163-194.

BRAZ-FILHO, R. Química de produtos naturais: importância, interdisciplinaridade, dificuldades e perspectivas. *Química Nova*, São Paulo, v.17, n.5, p.405-420, set./out. 1994.

CATARINO, V.M.; GHINI, R.; BETTIOL, W.; FERNANDES, L.M.S; SCRAMIN, S. Influência de extratos de folhas de *Tagetes minuta* e *Vernonia polyantes* no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytis cineria* e *Trichoderma* sp. *Summa Phytopathologica*, Piracicaba, v.14, n.1/2, p.43, jan./fev. 1988.

CHAVES, G.M. Proteção do suscetível por meio de fungicidas. In: *Fitopatologia geral*. Viçosa: Universidade Rural do Estado de Minas Gerais, 1966. p.58-86.

X CHÉVEZ POZZO, O.V. **O pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.): uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no norte de Minas Gerais**. Lavras: UFLA, 1997. 100p. (Dissertação - Mestrado em Administração Rural).

- CORRÊA, A.G. Taxol: da descoberta ao uso terapêutico. **Química Nova**, São Paulo, v.18, n.5, p.460-467, set./out. 1995.
- CORREIA, J.R. Solos, paisagem e conservação da biodiversidade do cerrado. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DO CERRADO: plantas medicinais do cerrado - perspectivas comunitárias para a saúde, o meio ambiente e o desenvolvimento sustentável, 1., 1998, Mineiros - GO. **Anais...** Mineiros - GO: Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior/Projeto Centro Comunitário de Plantas Medicinais, 1999. p.127-133.
- CRUZ FILHO, J. da; CHAVES, G.M. **Antibióticos, fungicidas e nematicidas empregados no controle de doenças das plantas**. Viçosa: Centro de Ensino de Extensão, UFV. 1979. 275p.
- FERNANDES, M.C.A. Emprego de métodos alternativos de controle de pragas e doenças na olericultura. In: CONGRESSO IBERO-AMERICANO SOBRE UTILIZAÇÃO DE PLÁSTICO NA AGRICULTURA, 2.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE PRODUÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS, AROMÁTICAS E CONDIMENTARES, 1., 2000, São Pedro, SP. **Trabalhos apresentados e palestras...** Horticultura Brasileira. Brasília: SOB/FCAV-UNESP, v. 18, 2000. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.18, p.110-112, 2000. Suplemento.
- FERRACINI, V.L.; MELO, I.S. de. Efeito de extratos de *Chenopodium ambrosioides* sobre *Sclerotium rolfsii*. In: WORKSHOP SOBRE PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS, 1., 1990, Jaguariúna. **Anais...** Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1990. p.54.
- FERREIRA, D.T.; ALVARES, P.S.M.; HOUGHTON, P.J.; BRAZ-FILHO, R. Constituintes químicos das raízes de *Pyrostegia venusta* e considerações sobre a sua importância medicinal. **Química Nova**, São Paulo, v.23, n.1, p.42-46, jan./fev. 2000.
- FERREIRA, F.R.; BIANCO, S.; DURIGAN, J.F.; BELINGIERI, P.A. Caracterização física e química de frutos maduros de pequi. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 9., 1987, Campinas. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1988. v.2, p.643-646.

X FRANCO, G. **Nutrição: texto básico e tabela de composição química dos alimentos.** 6.ed. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 1982. 230p.

GANS, W.; HOEKSTRA, E.S.; APTROOT, A. **CBS course of mycology.** 4.ed. Netherlands: Ponsen & Looyen BV, 1998. p.154.

GOMES, S. (Coord.). **Relatório final da comissão externa criada para apurar denúncias de exploração e comercialização ilegal de plantas e material genético na Amazônia. Comissão de biopirataria na Amazônia.** Brasília: Câmara de Deputados, 1998. 71p.

HERINGER, E.P. *Pequizeiro (Caryocar brasiliense Camb.)* In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL, 1962, Belo Horizonte. Anais... Belo Horizonte: Instituto Agrônômico de Minas Gerais, 1962. v.1, p.113-118.

KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS, S.; SHWITT, A. Impact of treatment with plant extracts from *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai on intensity of powdery mildew severity and yield in *Cucumber* under high disease pressure. **Crop Protection**, Surrey, v.17, n.8, p.649-656, 1998.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J.H. **Química farmacêutica.** Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. p.50

LARANJEIRA, D.; NEVES, R.P.; OLIVEIRA, S.M.A. Efeito do extrato de juazeiro (*Zizyphus joazeiro*) no crescimento de *Pseudomonas solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, p.287, ago. 1995a. Suplemento. (CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 28., 1995, Ilhéus. Resumos)

LARANJEIRA, D.; NEVES, R.P.; OLIVEIRA, S.M.A. Efeito de extratos de juazeiro (*Zizyphus joazeiro*) e sisal (*Agave sisalana*) sobre *Botryodiplodia teobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.20, p.321, ago. 1995b. Suplemento. (CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 28., 1995. Resumos.)

MACEDO, J.F. As plantas oleaginosas do cerrado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.16, n.173, p.21-27, 1992.

MATOS, F.J.A. **Introdução à fitoquímica experimental.** Fortaleza: UFC, 1988. 128p.

- MEYER, M.C.; YORINORI, J.T. Incidência de doenças da soja em regiões tropicais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA, 1999, Londrina. **Anais...** Londrina: EMBRAPA soja, 1999. p.457.
- MILES, D.H.; TUNSUWAN, K.; CHITTAWONG, V.; HEDIN, P.A.; KOKPL, V.; NI, C. Z.; CLARDY, J. Agrochemical activity and isolation of N-(4-bromophenil)-2,2-diphenylacetanilide from the Thai plant *Arundo donax*. **Journal of Natural Products**, v.56, n.9, p.1590-1593, Sept. 1993.
- MORAIS, L.A.S.; VIEGAS, E.C.; CARMO, M.G.F.; REINA, E.; CARVALHO, G.J.A. Avaliação "in vitro" da atividade de plantas medicinais sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.17, n.3, p.303, nov, 1999.
- NAIR, M.S.R.; BASILE, D.V. Bioconversion of arteannuin B to artemisin. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v.56, n.9, p.1559-166, Sept. 1993.
- NOVAES, W. (Prefácio). In: PINTO, M.N. (org.) **Cerrado: caracterização, ocupação e perspectivas**. 2.ed. rev. atual. Brasília: Universidade de Brasília, 1993. p.3-9.
- OLIVEIRA, J.A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.)**. Lavras: UFLA, 1991. 111p. (Dissertação - Mestrado em Fitossanidade).
- OLIVEIRA, M.M.; GILBERT, B.; MORS, W.B. Triterpenes in *Caryocar brasiliense*. **Anais da Academia Brasileira de Letras**, Rio de Janeiro, v.40, n.4, p.451-452, 1968.
- PASCHOLATI S. F.; LEITE B. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.2, p.1-53, 1994.
- PAULA, J.R. de; SALES, B.H.N.; SANTOS, S.C.; OLIVEIRA, C.M.A.; LIÃO, L.M.; FERRI, P.H.; FERREIRA, H.D. Composição química dos óleos essenciais das folhas e frutos de *Caryocar brasiliense* Camb. (Pequi). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 23., 2000, Poços de Caldas, MG. **Resumos...** Poços de Caldas: Sociedade Brasileira de Química, 2000. v.2, PN 007.

- PEREIRA, L.V.; ZILTON, J.M.C.; FIGUEIRA, A. dos R.; HINZ, R.H.; MATOS, A.P. de. Doenças da bananeira. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.20, n.196, p.37-47, 1999.
- PIMENTEL, M.F.; CHRISTOFIDIS, D.; PEREIRA, F.J.S. Recursos hídricos no cerrado. In: SIMPÓSIO SOBRE O CERRADO: bases para a utilização agropecuária, 4., 1977, Belo Horizonte: Anais... Itatiaia: Universidade de São Paulo, 1977. p.121-154.
- PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13.ed. São Paulo: Nobel, 1990. 467p.
- PINTO, C.M.F. Influência de extratos de plantas no crescimento micelial e na germinação de escleródios de *Sclerotium cepivorum* Berck. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, p.306, 1992. Suplemento.
- PIRES, M.O. Cerrado: Sociedade e biodiversidade. In: WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DO CERRADO: plantas medicinais do cerrado - perspectivas comunitárias para a saúde, o meio ambiente e o desenvolvimento sustentável, 1., 1998, Mineiros - GO. Anais... Mineiros - GO: Fundação integrada Municipal de Ensino Superior/Projeto Centro Comunitário de Plantas Medicinais, 1999. p.155-173.
- POZZA, E.A. **Ocorrência de doenças da parte aérea de plantas na região de Lavras-MG**. Lavras: UFLA, 1994. 97p. (Dissertação - Mestrado em Fitopatologia).
- PUTNAM, R.N. **Chemical & Engineer News**, 1983. v. 61, p. 34-37.
- RAMOS, A.E. (Introdução). In: SALES, A.H.; REIS, G.M.C.L.; ZURLO, M.A. (elab.). **Horto medicinal do cerrado**. 2.ed. rev. e ampl. Brasília: Jardim Botânico de Brasília, 1997. 33p.
- RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, J.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.56, n.4, p.1267-1271, out./dez. 1999. Suplemento.
- RIBEIRO, R.F. **Pequi: o rei do cerrado: roendo o fruto sertanejo por todos os lados**. Belo Horizonte: REDE CERRADO/REDE/CAA-NM/CAMPO VALE, 2000. 62p.

RIZZINI, C.T.; MORS, W.B. **Botânica econômica brasileira**. São Paulo: USP, 1976. 207p.

ROCHA, L.M. **Formulações de uso externo: curso de fitocosmetologia**. Maringá - PR., 1999. p.64 (Apostila).

RODRIGUES, V.E.G. **levantamento florístico e etnobotânico de plantas medicinais dos cerrados na região do alto Rio Grande-Minas Gerais**. Lavras: UFLA, 1998. 235p. (Dissertação - Mestrado em Engenharia Florestal).

RODRIGUES JÚNIOR, C.J. **Mecanismos de resistência das plantas aos agentes patogênicos**. Lisboa: Junta de investigações científicas do Ultramar, 1980. 67p.

SANTOS, M.M.F.B. dos. **Efeito de extratos de duas formas de *Lippia alba* sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* (PENZ.), isolado de *Citrus* sp.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1996. 105p. (Dissertação - Mestrado em Ciências).

X SILVA, E.C. da. **Desenvolvimento de emulsões cosméticas utilizando o óleo de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.)**. São Paulo: USP, 1994. 112p. (Dissertação - Mestrado em Ciências Farmacêuticas).

SILVA, R.A. da. **Avaliação de extratos vegetais na inibição "in vitro" de fungos fitopatogênicos**. Lavras: UFLA, 2000. 44p. (Dissertação - Mestrado em Agroquímica/Agrobioquímica).

X SILVA FILHO, P.V. da. **Plantas do cerrado produtoras de matéria tintorial**. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.16, n.173, p.27-32, 1992.

SILVERSTEIN, R.M.; BASSLER, G.C.; MORRIL, T.C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1994. 387p.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 1999. 821p.

- TANIGUCHI, M.; KUBO, J. Etnobotanical drug discovery based on medicine men's trial in the African savana: screenig of East African plantas for antimicrobial activity II. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v.56, n.9, p.1539-1546, Sept. 1993.
- VELOSO, H.P.; LOURENÇO FILHO, R.R.; LIMA, J.C. A. L. **Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: IBGE. Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, 1991. 124p.
- VENTURA, J.A. Taxonomia de *Fusarium* e seus segregados I - História, meios e procedimento de cultivo. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.7, p.271-298, 1999.
- YORINORI, J.T. Doenças da soja causada por fungos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.8, n.94, p.40-46, 1982.
- YUYAMA, M.M.; HENNING, A.A. Avaliação da fungicidas e suas misturas para o controle de *Colletotrichum truncatum* em sementes de soja. **Informativo ABRATES**, Curitiba, v.9, n.1/2, p.102, 1999. (Número Especial).
- ZAMBOLIM, L.; COSTA, H.; VALE, F.X.R. Situação atual do controle químico de doenças de hortaliças. CONGRESSO IBERO-AMERICANO SOBRE UTILIZAÇÃO DE PLÁSTICO NA AGRICULTURA, 2.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE PRODUÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS, AROMÁTICAS E CONDIMENTARES, 1., 2000, São Pedro, SP. Trabalhos apresentados e palestras. **Horticultura Brasileira**. Brasília: SOB/FCAV-UNESP, v. 18, 2000. p.96-109. Suplemento.

ANEXOS A

- TABELA 1A: Resumo das análises de variância de porcentagem de germinação de esporos de *Botrytis cineria* e *Colletotrichum truncatum* com os extratos brutos etanólicos da folha e do botão floral com quatro tipos de concentração..... 90
- TABELA 2A: Resumo das análises de variância dada pelo teste T para o fator concentração..... 90
- TABELA 3A: Resumo das análises de variância de porcentagem de germinação de esporos de *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum* com os extratos metanólicos da folha, botão floral, mesocarpo externo e mesocarpo interno com quatro tipos de concentração. 91

TABELA 1A: Resumo das análises de variância de porcentagem de germinação de esporos de *Botrytis cineria* e *Colletotrichum truncatum* com os extratos brutos etanólicos da folha e do botão floral com quatro tipos de concentração.

C.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	F	Pr > F
Ext.	1	1906.38746544	1906.38746544	10.81	0.0019
Fun.	1	249.32260775	249.32260775	1.41	0.2403
Conc.	3	8548.23800717	284941266906	16.16	0.0001
Ext.*conc.	3	2569.82478977	856.6082326	4.86	0.0050
Ext.*fun.	1	852.068990236	852.06890236	4.83	0.0329
Fun.*conc.	3	2631.03000272	877.01000091	4.97	0.0044
Ext.*fun.*conc.	3	1404.29536765	468.09845588	2.66	0.0593
Error	47	8286.37000000	176.30574468	-	-
Total	62**	26447.53714286			

** Houve perda de um dado

TABELA 2A: Resumo das análises de variância dada pelo teste T para o fator concentração.

Conc	Porc.	i/j			
		1	2	3	4
C1	57,51	-	0,0041	0,0001	0,0001
C2	71,98	0,0041	-	0,0131	0,0037
C3	84,34	0,0001	0,0131	-	0,6274
C4	86,63	0,0001	0,0037	0,6274	-

TABELA 3A: Resumo das análises de variância de porcentagem de germinação de esporos de *Botrytis cineria*, *Colletotrichum truncatum* e *Fusarium oxysporum* com os extratos metanólicos da folha, botão floral, mesocarpo externo e mesocarpo interno com quatro tipos de concentração.

C.V.	G.L	S.Q.	Q.M.	F	Pr > F
Ext.	3	1504.10657685	501.36885895	5.24	0.0018
Fun.	2	38630.51140571	19315.25570286	202.01	0.0001
Conc.	3	2910.93457042	970.31152347	10.15	0.0001
Ext.*conc.	9	3233.35718943	359.26190994	3.76	0.0003
Ext.*fun.	6	8576.77661190	1429.46276865	14.95	0.0001
Fun.*conc.	6	5529.17128415	921.52854736	9.64	0.0001
Ext.*fun.*conc.	18	5103.02178259	283.50121014	2.97	0.0002
Error	142	13577.06500000	95.61313380	-	-
Total	189**	79064.94442105	-	-	-

** Houve perda de dois dados