

DANDARA RÊGO MUNIZ DA SILVA

POTENCIAL BIOCIDA DE *Jatropha curcas* L.

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de Doctor Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2019

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

M966p
2019 Muniz, Dandara Rêgo, 1986-
Potencial biocida de *Jatropha curcas* L. / Dandara Rêgo Muniz. -
Viçosa, MG, 2019.
xi, 63f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador : Luiz Antônio dos Santos Dias.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. *Jatropha curcas* L. 2. Biocidas. 3. Café - Doenças e pragas.
4. Ferrugem do cafeeiro. 5. Cercosporiose . I. Universidade Federal de
Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em
Fitotecnia. II. Título.

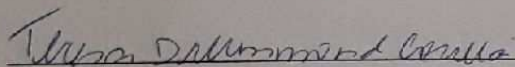
CDD 22. ed. 633.85

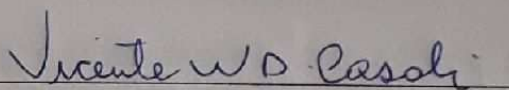
DANDARA RÊGO MUNIZ DA SILVA

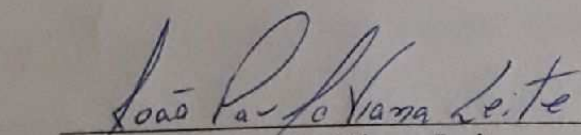
POTENCIAL BIOCIDA DE *Jatropha curcas* L.

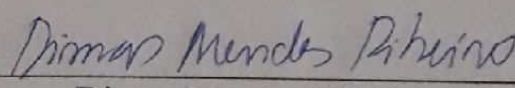
Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

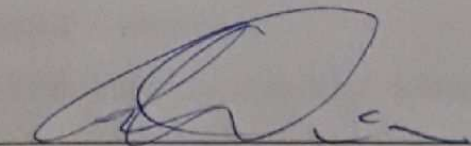
APROVADA: 12 de fevereiro de 2019.


Teresa Drummond Correia


Vicente Wagner Dias Casali


João Paulo Viana Leite
(Coorientador)


Dimas Mendes Ribeiro


Luiz Antônio dos Santos Dias
(Orientador)

À Tia Mana, obrigada por todo amor!

AGRADECIMENTOS

“Sonho que se sonha só, é só um sonho que se sonha só, mas sonho que se sonha junto é realidade”.

A Deus, pela força, paciência e energia que permitiu que eu chegasse até o fim.

Ao meu orientador, Professor Luiz Antônio dos Santos Dias, pelos ensinamentos, dedicação, confiança e, acima de tudo, pela amizade e dicas literárias.

Aos meus coorientadores, Professores João Paulo Viana Leite, Olinto Liparini Pereira e Jorge Luis Badel Pacheco, por me receberem, pelo fornecimento de todo material, uso dos seus laboratórios, disponibilidade e gentilezas incontestáveis e pelas importantes sugestões que foram fundamentais para a minha pesquisa.

A Iasmine Ramos Zaidan, por seu interesse e parceria na construção desse trabalho; ele é nosso!

Ao Professor Rafael Tassinari, pela ajuda nas análises estatísticas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

A Professora Denise Cunha Fernandes dos Santos Dias pelo auxílio em toda a parte burocrática.

Aos professores Acelino Couto Alfenas, Hermínia Emilia Prieto Martinez, Jorge Luiz Colodette, José Rogério de Oliveira e Márcio Henrique Pereira Barbosa pelo empréstimo dos equipamentos, e aos professores Laércio Zambolim e Sérgio Hermínio Brommonschenkel pela doação das mudas de café e cepas de *Pseudomonas*.

A Tatiani Gomes Gouvêa pela paciência e por toda ajuda nos momentos iniciais nessa nova instituição.

Aos demais professores dos Departamentos de Fitotecnia, Fitopatologia e Bioquímica por todo o conhecimento repassado durante a minha formação.

Aos técnicos e estudantes, Andressa, Athus Diego, Bianca, Bruno, João Carlos, Martha e Thiago Maia. Em especial a Carmen Herrera e Yane Neves por se tornarem grandes amigas.

Aos colegas do grupo Agroenergia, obrigada por me acolherem e pelo conhecimento compartilhado.

Aos funcionários da Fazenda Experimental da UFV pelo auxílio na coleta, e aos responsáveis pela limpeza por manterem os locais de trabalho agradáveis e pelo bom dia diário.

A Átima Zuanon por me apresentar ao maravilhoso mundo da docência, e aos “meus meninos” do Coluni por tornarem Viçosa o melhor lugar para se estar.

Como não agradecer a todos meus amigos e companheiros, por estarem sempre ali, e por tantos bons momentos. Sem vocês nada disso teria sido igual.

Um agradecimento muito especial ao Fábio Durso, Flávia Vitorino, João Paiva, Maisa dos Anjos, Rosangela Barbosa, Sarah Guimarães, Talitha Pereira e Teresa Drummond.

Ao Alexandre, por partilhar comigo momentos de alegria e tristeza, pelo apoio demonstrado e por me incentivar a continuar.

Aos meus pais, irmãos e irmã pelo amor incondicional, dedicação, apoio e esforços. Amo vocês!

Meu agradecimento, de coração, a todos aqueles que, de alguma forma, me ajudaram nesse caminhar; o conhecimento só vale a pena quando compartilhado.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 2

- Figura 1.** Doenças fúngicas do cafeeiro. A - Cercosporiose; B - Ferrugem. 39
- Figura 2.** Localização de contagem dos esporos na câmara de Neubauer (PREDAS-ROJAS et al., 2018). 44
- Figura 3.** Crescimento do fungo *Cercospora coffeicola* ao longo do tempo (dias). a) Médias de cada controle e extratos; b) Teste de identidade de modelo, por contraste entre os tratamentos (extratos, controle e DMSO 2%), para verificar as significâncias entre as curvas. 49
- Figura 4.** Inibição micelial de *Cercospora coffeicola* causada pelos extratos de *Jatropha curcas* L.. A – H₂O; B – DMSO 2%; C – EC04-clorofórmico; D – EC04-etanólico; E – EF08-clorofórmico; F – EF08-etanólico. (Escala = 0,5cm). 51
- Figura 5.** Alteração na coloração micelial de *Cercospora coffeicola*. A - H₂O; B - DMSO 2%; C - EC02-etanólico; D - EF03-clorofórmico; E - EF05-etanólico; F - EF10-etanólico. 52
- Figura 6.** Lâminas mostrando a ausência de clamidósporos no micélio de *Cercospora coffeicola*. A - EC02-etanólico; B - EF03-clorofórmico; C e D - Exemplos de hifas com clamidósporos (TOMÉ & MARQUES - Atlas de Micologia). 53
- Figura 7.** Atividade fungistática dos extratos de *Jatropha curcas* L.. A - EC04-clorofórmico; C - EC04-etanólico; E - EF08-clorofórmico; G - EF08-etanólico; B, D, F e H - Restabelecimento do crescimento micelial em meio sem a presença do extrato... 54
- Figura 8.** Germinação de uredinósporos de *Hemileia vastatrix* sob ação de extratos foliares e caulinares de *Jatropha curcas* L. (aumento 40 x). A - H₂O; B - DMSO 2%; C - EC09-clorofórmico; D - EC05-etanólico; E - EF08-clorofórmico; F - EF03-etanólico. (Escala = 100µm)..... 56
- Figura 9.** Atividade bactericida dos extratos de *Jatropha curcas* L. sobre *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. (Escala = 0,5cm) 57

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Table 1. Parts and extracts of *Jatropha curcas* L. used in pest control..... 26

Table 2. Parts and extracts of *Jatropha curcas* L. used in control of fungal diseases . 28

Capítulo 2

Tabela 1. Produção mundial de café por continentes/países, para a colheita de 2017/2018..... 36

Tabela 2. Consumo mundial de café nos países produtores e importadores, no ano-safra de 2018 38

Tabela 3. Codificação dos extratos 41

Tabela 4. Rendimento dos extratos de folhas e de caule referentes aos 12 acessos de *Jatropha curcas* L. 47

Tabela 5. Análise de variância em esquema fatorial na parcela sub-sub-dividida relativa aos fatores Tratamento (Controle, DMSO 2% e Extratos), Órgão (Folhas e Cascas de Caule) e Solvente (CHCl₃ e ETOH) e Dia (1, 2, ...,13)..... 48

Tabela 6. Teste de identidade de modelos lineares e linearizados para explicar a relação medição (y, em unidade) versus tempo (x, em dias) relativo a ação de extratos obtidos. Em negrito o modelo escolhido.....59

RESUMO

MUNIZ, Dandara Rêgo, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Potencial biocida de *Jatropha curcas* L.** Orientador: Luiz Antônio dos Santos Dias. Coorientadores: João Paulo Viana Leite, Jorge Luis Badel Pacheco e Olinto Liparini Pereira.

Jatropha curcas L. é uma oleaginosa de múltiplos propósitos, por apresentar, além da importância do seu óleo para produção de biodiesel, uma grande diversidade de compostos bioativos com atributos medicinais e ação biocida no controle de pragas e doenças de diversos cultivos. Esta revisão aborda o estado da arte da ação biocida dos metabólitos secundários dessa espécie. Dentre esses compostos, os ésteres diterpênicos derivados do forbol são as moléculas mais estudadas, devido a toxicidade aos seres humanos e animais, e pela alta atividade fungicida e inseticida. Tais metabólitos, possivelmente, atuam na destruição do retículo endoplasmático e da parede celular das hifas. Nos insetos-praga, estes compostos, provavelmente, atuam sobre o metabolismo, ocasionando inibição alimentar, repelência, inibição do ato do acasalamento, ação inibitória ou supressora da oviposição e/ou indução da produção de ovos inférteis, além da inibição do desenvolvimento de larvas, ninfas e pupas. Vários estudos demonstram que embora todas as partes da planta sejam tóxicas, o grau de toxicidade pode variar de acordo com a forma de obtenção do extrato, dose e modo de administração, e sensibilidade do indivíduo. Sendo assim, *J. curcas* é destaque como espécie promissora por atender tanto o aspecto agroenergético, quanto o fitossanitário no controle de pragas e doenças que afetam a agricultura. Dessa forma, o presente estudo avaliou, no capítulo 2, a atividade fungicida e bactericida de extratos foliares e caulinares de 12 acessos, pré-selecionados em teste de progênies, sobre os fungos *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola*, causadores de duas das mais importantes doenças do cafeeiro: ferrugem e cercosporiose, respectivamente, e sobre a bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, causadora da mancha aureolada. Amostras de folhas e caules de *J. curcas* foram submetidas a secagem e moagem e seus extratos clorofórmicos e etanólicos preparados com auxílio do aparato Soxhlet. As atividades fungicidas e bactericidas foram avaliadas, in vitro, a partir da inibição da germinação de esporos de *H. vastatrix*, da redução percentual do crescimento micelial de *C. coffeicola* e da diminuição da zona de crescimento de *P. syringae* pv. *garcae*. Todos os extratos foram capazes de inibir, em 100%, a germinação dos esporos de *H. vastatrix*. Todos os extratos reduziram significativamente o crescimento micelial de *C. coffeicola*, sendo as reduções mais

expressivas de 16, 17, 12 e 20%, dos extratos EC04, EF04-clorofórmico e os EC08, EF08-etanólico, respectivamente. Alterações morfológicas também foram observadas nos micélios, indicando a possível variação na produção de melanina, metabólito secundário de importância no desenvolvimento fúngico. Os extratos não agiram sobre *P. syringae* pv. *garcae*. Esses resultados demonstram a importância dos estudos sobre as propriedades fungicidas dos extratos de *J. curcas*, bem como, na caracterização e identificação de seus componentes bioativos.

Palavras-chave: Fitopatógenos; Insetos-praga; Metabólitos secundários; Pinhão-manso; Biocida; *Jatropha curcas*; *Coffea arabica*; Ferrugem; Cercosporiose; Mancha aureolada.

ABSTRACT

MUNIZ, Dandara Rêgo, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Jatropha curcas L. potential biocide.** Adviser: Luiz Antônio dos Santos Dias. Co-advisers: João Paulo Viana Leite, Jorge Luis Badel Pacheco and Olinto Liparini Pereira.

Jatropha curcas L., a multipurpose oilseed plant, is very important for biodiesel production, also for a wide range of bioactive compounds with medicinal activity and biocidal action for control of pests and diseases in crops. This review presents the state-of-the-art of biocidal action of the secondary metabolites of this species. Among these compounds, phorbol esters diterpenes are the most studied molecules due to the toxicity to humans and animals, and to high fungicidal and insecticidal activity. Such metabolites activity possibly is on destruction of endoplasmatic reticulum and on hyphae cell wall. It's well known the activity of, these compounds of insect pests on metabolism, leading to antifeedant effect; repellency; mating inhibition mating; inhibitory action or oviposition suppression and/or induction infertile eggs production; and inhibition of larvae development , nymphs, and pupae. Several studies have shown that although all plant parts are toxic, the degree of toxicity varies in accordance with extract formulation, with nature of the active substance, the rate and administration procedure, and the individual sensitivity. Thus, *J. curcas* stands out as a promising species for to agroenergetic purposes as well as for control of pests and diseases that affect agriculture. Thus, the present study evaluated, in the second chapter, the fungicidal and bactericidal activity of foliar and stem extracts of 12 accessions, pre-selected in a progeny test, on the fungi *Hemileia vastatrix* and *Cercospora coffeicola*, causing two of the most important diseases of coffee: rust and cercosporiosis, respectively, and on the bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. Leaf and stems samples of *J. curcas* were submitted to drying and milling and their chloroform and ethanolic extracts prepared with the aid of the Soxhlet apparatus. The fungicidal and bactericidal activities were evaluated, in vitro, from the inhibition of spore germination of *H. vastatrix*, the percentage reduction of the mycelial growth of *C. coffeicola* and the decrease of the growth zone of *P. syringae* pv. *garcae*. All extracts were able to inhibit the germination of *H. vastatrix* spores in 100%. In agreement, all the extracts significantly reduced the mycelial growth of *C. coffeicola*, being the most expressive reductions of 16%, 17%, 12%, and 20%, for extracts EC04, EF04-chloroform, and EC08, EF08-ethanolic, respectively. Morphological changes were also observed in the

mycelia, indicating a possible variation in the production of melanin, a secondary metabolite of importance for the fungal development. The extracts were not able to act on the growth zone of *P. aeruginosa* pv. *garcae*. These results demonstrate the importance of advancing the studies on the fungicidal properties of extracts of *J. curcas*, as well as the characterization and identification of their bioactive components.

Key-words: Phytopathogens; Insect pests; Secondary metabolites; Physic nut; Biocide; *Jatropha curcas*; *Coffea arabica*; Coffee rust; Leaf spot; Bacterial blight of coffee.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
Biocide potential of <i>Jatropha curcas</i> L. extracts.....	2
RESUMO	2
ABSTRACT	3
1 INTRODUCTION.....	4
2 Main metabolites of <i>J. curcas</i> for pest and disease control	6
3 Pests and diseases controlled with extracts of <i>J. curcas</i>	8
4 CONCLUSION.....	11
5 REFERENCES	11
CAPÍTULO 2	30
Potencial biocida de extratos <i>Jatropha curcas</i> L. sobre os fungos <i>Hemileia vastatrix</i> , <i>Cercospora coffeicola</i> e a bactéria <i>Pseudomonas syringae</i> causadores de doenças do cafeeiro.	30
RESUMO	31
ABSTRACT	33
1 INTRODUÇÃO	34
2 Consumo	38
3 País	38
4 Consumo	38
5 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
5.1 Coleta do material vegetal.....	40
5.2 Preparação dos extratos.....	40
5.3 Ensaio com <i>Cercospora coffeicola</i>	42
5.4 Ensaio com <i>Hemileia vastatrix</i>	43
5.5 Ensaio com <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>garcae</i>	44
5.6 Análises estatísticas	44
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6.1 Rendimento dos extratos.....	45
6.2 Ensaio antifúngico com <i>Cercospora coffeicola</i>	47
6.3 Ensaio antifúngico com <i>Hemileia vastatrix</i>	55
6.4 Ensaio bactericida <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>garcae</i>	56
7 CONCLUSÃO	58
8 REFERÊNCIAS.....	58

CAPÍTULO 1

Biocide potential of *Jatropha curcas* L. extracts

Potencial biocida de extratos de *Jatropha curcas* L.

Dandara Rego Muniz¹, Iasmine Ramos Zaidan¹, Luiz Antônio dos Santos Dias^{1*},

João Paulo Viana Leite², Marília Contin Ventrella³

-REVISÃO BIBLIOGRÁFICA-

RESUMO

Jatropha curcas L. é uma oleaginosa de múltiplos propósitos, por apresentar, além da importância do seu óleo para produção de biodiesel, uma grande diversidade de compostos bioativos com atributos medicinais e ação biocida no controle de pragas e doenças de diversos cultivos. Esta revisão aborda o estado da arte da ação biocida dos metabólitos secundários dessa espécie. Dentre esses compostos, os ésteres diterpênicos derivados do forbol são as moléculas mais estudadas, devido a toxicidade aos seres humanos e animais, e pela alta atividade fungicida e inseticida. Tais metabólitos, possivelmente, atuam na destruição do retículo endoplasmático e da parede celular das hifas. Nos insetos-praga, estes compostos, provavelmente, atuam sobre o metabolismo, ocasionando inibição alimentar, repelência, inibição do ato do acasalamento, ação inibitória ou supressora da oviposição e/ou indução da produção de ovos inférteis, além da inibição do desenvolvimento de larvas, ninfas e pupas. Vários estudos demonstram que embora todas as partes da planta sejam tóxicas, o grau de toxicidade pode variar de acordo com a forma de obtenção do extrato, dose e modo de administração, e sensibilidade do indivíduo. Sendo assim, *J. curcas* é destaque como espécie promissora por atender tanto o aspecto agroenergético, quanto o fitossanitário no controle de pragas e doenças que afetam a agricultura.

Palavras-chave: Fitopatógenos, insetos-praga, metabólitos secundários, pinhão-mansão.

¹ Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa (UFV), Campus Universitário, 36.590-900, Viçosa, Minas Gerais, Brazil. lasdias@ufv.br *Corresponding author

² Departamento de Biologia Vegetal, UFV. E-mail: jpvleite@gmail.com

³ Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, UFV. ventrella@ufv.br

ABSTRACT

Jatropha curcas L., a multipurpose oilseed plant, is very important for biodiesel production, also for a wide range of bioactive compounds with medicinal activity and biocidal action for control of pests and diseases in crops. This review presents the state-of-the-art of biocidal action of the secondary metabolites of this species. Among these compounds, phorbol esters diterpenes are the most studied molecules due to the toxicity to humans and animals, and to high fungicidal and insecticidal activity. Such metabolites activity possibly is on destruction of endoplasmatic reticulum and on hyphae cell wall. It's well known the activity of, these compounds of insect pests on metabolism, leading to antifeedant effect; repellency; mating inhibition mating; inhibitory action or oviposition suppression and/or induction infertile eggs production; and inhibition of larvae development , nymphs, and pupae. Several studies have shown that although all plant parts are toxic, the degree of toxicity varies in accordance with extract formulation, with nature of the active substance, the rate and administration procedure, and the individual sensitivity. Thus, *J. curcas* stands out as a promising species for to agroenergetic purposes as well as for control of pests and diseases that affect agriculture.

Key words: Phytopathogens, insect pests, secondary metabolites, physic nut.

1 INTRODUCTION

The *Jatropha* genus, (Euphorbiaceae - Platiobeae subfamily), has more than 70 shrub like species, such as *Jatropha pohliana*, *Jatropha gossypifolia*, and *Jatropha curcas* (XU et al., 2012). The fast growth, easy propagation, and adaptation to many environments, are some of the traits that favor wide distribution of the plants of this genus.

J. curcas, commonly known as physic nut, is a diploid specie of 22 small chromosomes (DAHMER et al., 2009). The inflorescences with male or female, and, occasionally, hermaphrodite flowers give rise to fruit and three seeds (trilocular ovary). The stem of multiple branches hold inflorescences, which appear at the beginning of the rainy season. Being a shrub species, reach 5 m height while the root system reach 5 m depth, with primary root and four lateral roots (DIVAKARA et al. 2010; BRASILEIRO et al., 2012).

Studies have confirmed that the center of origin, diversity, and domestication is Mexico, as suggested by DIAS et al. (2012), although it can be grown throughout the world, including all Brazilian regions (HELLER, 1996). *J. curcas* is widely distributed and is found at altitudes that range from sea level to 3000 m, and in regions under annual rainfall from 250 to 2500 mm. The temperature requirement is between 18 and 28 °C (DIAS et al., 2012). It is a hardy oilseed plant that develops under adverse dry and rocky soil conditions, and it would be useful in recovering degraded areas.

In addition, the advantage of *J. curcas* is the perennial cycle and good yield when cropped, since yields more than 1500 L ha⁻¹ of oil after the fourth year of cultivation (DIAS et al. 2007; LAVIOLA et al., 2014; OLIVEIRA, 2016). *J. curcas*, together with palm species like oil palm (whose production is around 4000 L ha⁻¹ of oil), offers considerable promise for biodiesel production. Soybean, currently important for most production of Brazilian biodiesel (70%), yields 500 L ha⁻¹ of oil (OLIVEIRA, 2016; ABIOVE, 2019).

The worrisome consequences foreseen in a scenario of global climate changes along with gradual reduction in petroleum reserves drive the search for alternatives to supply world demand for transportation energy. Among the available sources of energy, it is important to prioritize those that are economically feasible, socially just, and ecologically correct. Liquid biofuels, ethanol and biodiesel, are in this context (DIAS, 2011; RIBEIRO et al., 2011).

The biodiesel derived from transesterification of vegetable oils is an environmentally correct alternative since it is a renewable source of energy to be used to complement petroleum diesel (ROQUE et al., 2017). The use of biodiesel reduces release of greenhouse effect gases from burning of fossil fuels and reduces dependency on petroleum. Among the agroenergetic crops with considerable potential for fuel oil purposes, *J. curcas* offers the most positive perspectives, whether through high oil production per hectare (38% oil in its seeds, with a mean of 1,500 kg ha⁻¹) or through not competing with the food chain, as occurs in other oilseed crops (DIAS et al., 2007; DIAS, 2011; RIBEIRO et al., 2011; DIAS et al., 2012). These characteristics make this species the great green promise for biodiesel, in spite of the scarcity of improved varieties and of the present heterogeneity of the cultivated population (DIAS et al., 2007; OLIVEIRA, 2016).

J. curcas has been known from antiquity for its exceptional medicinal properties (DIAS et al., 2012); this characteristic is even responsible for its name: the Greek word **jatrós** means doctor, and **trophé** means food (KUMAR & SHARMA, 2008). Studies report its healing (SACHDEVA et al., 2011a), anticarcinogenic (DEVAPPA et al., 2011), antidiabetic (JAYAKUMAR et al., 2010), and anti-inflammatory (NAYAK & PATEL, 2010) activities. However, the seeds and oil must to be used with caution since they have an array of compounds considered antinutritional, making the oil and the pressed residue inappropriate for animal and human consumption. This toxicity is due to the presence of compounds such as protease inhibitors (curcine), phytates, lectins, saponins, and other more toxic compounds, such as co-carcinogens and phorbol esters (HAAS and MITTELBAACH, 2000; HE et al., 2011; DEVAPPA et al., 2012).

The list of products obtained from *J. curcas* has been increase, emphasizing the multipurpose character of the species. Extracts from oil of the seed, leaf, and stem have exhibited not only the medicinal properties, but also molluscicide, insecticide, and fungicide action (SAETAE & SUNTORNSUK, 2010), for future use as a biocide.

Pests and diseases are currently controlled, in most cases, with intensive and indiscriminate use of synthetic insecticides and fungicides. This strategy leads to selection of resistant populations to pesticides, making control ever more difficult, less efficient, and, consequently, more costly. Organochlorides and organophosphates are the most common chemical groups of synthetic biocides. The former, though to low toxicity, persists in the human body and environment and may remain active for a long

period. The latter, although it is quickly degradable in the environment, has high toxicity (MORAGAS & SCHENIDER, 2003).

So, plant derived biocides are truly as a source of bioactive substances for integrated pest and disease management programs, and may reduce the side effects from application of organo synthetic products in the environment (ASHRAF et al., 2013; SHARMA, 2017). They have even greater specificity for target organisms (ASHRAF et al., 2013; SHARMA, 2017) and are of lower production cost, making the final product economically feasible for small farmers.

The aim of this review is to offer a broad perspective of the state-of-the-art of biocide activity of secondary metabolites of *Jatropha curcas* L.

2 Main metabolites of *J. curcas* for pest and disease control

The compounds coming from chemical reactions within a cell are called metabolites (SIMÕES et al., 2010). According to distribution in the plant kingdom and participation in vital processes, these metabolites may be divided into primary and secondary metabolites. Primary metabolites are essential to life and common to all plants. They perform some functions involved in transformation of molecules, such as photosynthesis and amino acid and protein synthesis (SIMÕES et al., 2010).

Secondary metabolites, in turn, are non-essential substances in most cases, but they contribute to adaptation and survival of plants (SIMÕES et al., 2010). They play important role in interactions plant-environment, including plant pathogen interaction. Since they are not ubiquitous, they are often used as traits in taxonomy. Most of the secondary metabolites are biosynthesized from intermediates provided by primary metabolism. The latter are used as precursors in the biosynthetic routes of aliphatic amino acids, malonate, acetate, mevalonate, deoxyxylulose phosphate, chiquimate and aromatic amino acids, culminating in the formation of compounds of secondary metabolism (LEITE, 2009).

Secondary metabolites are of great interest, not only because the biological activities of the plants in response to environment, but also the immense pharmacological activity. Many metabolites have significant agronomic value (SIMÕES et al., 2010). All activities of plant extracts come from the period of evolution. Plants have developed their chemical defenses, enhancing their defense mechanisms, through pathways that synthesize these compounds (WIESBROOK, 2004). These substances

exhibit biological action, including action on microorganisms through diverse mechanisms.

As far as secondary metabolite production, *J. curcas* is an important species because these compounds are distributed in all organs. As the other plants of Euphorbiaceae family, it produces a great deal of latex, whose metabolome (BERG et al., 1995) and proteome (YANG et al., 2017) exhibit a great variety of primary and secondary metabolites. However, phorbol esters diterpenes stand out as the main toxic compound, able to cause acute toxicity, provoking an intense inflammatory response and/or chronic toxicity. It prompts the appearance of tumors by the kinase C enzyme bonding and activation mechanism, responsible for cell differentiation and for promoting growth regulation (GOEL et al., 2007; ABDELGADIR & VAN STADEN, 2013). Up to now, six different derived of phorbol esters have been identified in this species (HAAS et al., 2002).

These metabolites are sources of bioactive substances compatible with integrated pest and disease management programs. For that reason, they could be combined with other methods for control of insects, bacteria, and fungi, allowing maintenance of ecological balance without leaving harmful residues (PATIL et al., 2016; TRIVEDI et al., 2018).

Biocides arise as an excellent alternative because they are natural products derived from plants and are produced by plants, or from plant derivatives through aqueous extractions or extractions with organic solvents (WIESBROOK, 2004).

J. curcas is highly toxic, not only to microorganisms, but also to animals and humans. All parts of the plant are toxic, and the degree of toxicity varies according to the extract, the chemistry composition of the extract substance, the environment, and the rate and mode of application. Toxicity can be also influenced by the individual sensitivity (DEVAPPA et al., 2010). Curcine, the protein present in *J. curcas* seeds, for example, has expressive antifungal activity, and may completely inhibit the formation of spores of *Pyricularia oryzae*, a fungus that damage the rice crop. However, this substance may inhibit protein synthesis process in animals (WEI et al., 2004; JARAMILLO-QUINTERO et al., 2015). 2S albumin is another example of a molecule present in *J. curcas* that may cause some adverse effects due to allergenic activity and may bring about skin and eye irritation (MACHADO et al., 1992). Other compounds, such as phytates and saponins, also require precautions (WEI et al., 2004). However, these metabolites must be carefully used. In integrated pest and disease management,

phorbol esters are key molecules due to antifungal activity (SAETAETAE & SUNTORNSUK, 2010) and toxicity to some insect pests (RATNADASS et al., 2009).

As seen above, *J. curcas* is a potential producer of bioactive secondary metabolites belonging to the most diverse types (SABANDAR et al., 2013; ABDELGADIR & VAN STADEN, 2013). All this potential should be studied and taken advantage of in all areas, notably in agriculture.

3 Pests and diseases controlled with extracts of *J. curcas*

Extracts derived from the leaves, stems, roots, and seeds of *J. curcas* exhibit diverse properties for pest (Table 1) and disease (Table 2) control in plants. The effective action of *J. curcas* extracts as biocide has been confirmed in various studies (ADEBOWALE and ADEDIRE, 2006; OGBEBOR et al., 2007; SHARMA, 2017) and its application is an interesting alternative from the agronomic point of view, due to resistance of some pests and pathogens to synthetic insecticides and fungicides. Integrated management programs have encouraged this alternative control to minimize ecological damage found in ecosystems since natural products are innocuous to environment (PATIL et al., 2016; TRIVEDI et al., 2018).

The use of aqueous leaf extract led to death of *Ceratitis capitata* (fruit fly) larvae (SILVA et al., 2015) and of insect pests of stored grains: *Sitophilus zeamais* and *Rhyzopertha dominica* (SILVA et al., 2012). Promising results were also obtained with stem and leaf hydroalcoholic extracts in control of *Aedes aegypti* larvae (BESERRA et al., 2014). In the five extracts, the presence of proteins, amino acids, and polysaccharides were detected, as well as secondary metabolites such as tannins, phenols, alkaloids, steroids, and saponins (SILVA et al., 2015; BESERRA et al., 2014). Sometimes the extract can be prolonging the larval phase of pest insect, together with its mortality through application of plant extracts, and this action is very important in the field because it will increase the time of exposure of the pest to natural enemies, as well as the mean time of each generation, and this consequently reduces the population growth of the pest (TORRES et al., 2001).

Toxicity evaluation of methanol extracts from plant parts (leaf, stem, seed, and root) of *J. curcas* on larval stages of *Spodoptera litura* showed that leaf extract was the most effective, with mortality rates of 60% (INGLE et al., 2017). Similar results were observed by using of stem and seed (oil) extracts on larvae of *Bactrocera zonata* and *Bactrocera cucurbitae* (RAMPADARATH et al., 2016). The difference in extract

effectiveness was due to concentrations of metabolites in each organ (RAMPADARATH et al., 2016). Methanol extract from oil of the seed was able to control 100% of the population of adult individuals of the *Odontotermes obesus* termite (VERMA et al., 2011), and this result is mainly due to the high concentration of phorbol ester in this extract.

Due to the solvent and organ of extract preparation the method of application also is important so that control occurs in an efficient manner. For control of *Planococcus citri*, known as citrus mealybug, aqueous extracts of the stem and leaf were applied in two ways: 1) spraying the extract directly on the mealybugs with the Potter spray tower (direct application) and 2) application of the extracts on coffee leaf disks with later inoculation of the insects (indirect application). These forms of application represent post-infection and preventive control, respectively (HOLTZ et al., 2016). Both extracts exhibited the best results through direct application.

Secondary metabolites activity on insect metabolism lead to antifeedant effect; repellency; inhibitory action or suppression of oviposition and/or induction of infertile egg production; inhibition of development of larvae, nymphs, and pupae; and inhibition of the act of mating (HARTMANN, 2004). The best results on biocide activity of *J. curcas* were observed in oil extracts, reinforcing the importance of phorbol ester as a key substance. It should be remembered that this metabolite is most concentrated exactly in the seeds (GONÇALVES et al., 2009). Extract direct applications were more efficient than indirect. Since extract molecules are absorbed by insect integuments, affecting the central nervous system and leading to death. In indirect application, the molecules first pass through the digestive system of the insect, before being able to reach vital systems (HOLTZ et al., 2016).

Plant extracts from *J. curcas* parts also proved to have a fungicidal effect (Table 2). In the banana crop, aqueous leaf extract was effective from control of fungus *Colletotrichum musae*, the agent of anthracnose, upon inhibiting mycelial growth (THANGAVELU et al., 2004). From the use of the same organ, the ethanolic extract had a positive effect on the mycelial growth of *Cercospora coffeicola*, reducing the development of this structure by up to 20%. In the same research, was observed promising results for the control of coffee rust, from the use of the leaf extract of *J. curcas* it was possible to inhibit the germination of *Hemileia vastatrix* in 100% (ZAIDAN, 2018; MUNIZ, 2019).

In the ornamental *Gladiolus* plants, mycelial growth *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* is a main pathogen that affects production. Systemic fungicides applications are the common method of control. *J. curcas* oil, extracted by petroleum ether, was tested for control and caused changes in the morphology of the inner lining of the mycelium and of the conidia, in the presence of vacuoles, and on inhibition of the metabolic activity of the membrane in the fungus (CÓRDOVA-ALBORES et al., 2016). Although these results do not caused effective control of the fungus, they are important, due to the activity on fungus reproductive structures, and interfere in the life cycle of fungus.

The possible mechanisms of antifungal action are characterized by destruction of the cell wall of the hyphae (WEI et al., 2005) and destruction of the endoplasmatic reticulum (JING et al., 2005). Most of the cell organelles were destroyed 72 h after the treatment. Unlike what it was observed for the pests, the antifungal action come from each organ extracts, showing the importance of substances other than phorbol esters. It otherwise shows the greater sensitivity of these organisms since even from the use of organs that have a lower concentration of the compound, it is possible to obtain good results.

The antifungal effect can be effective with different types of extracts: petroleum ether, acetone, alcohol, water, ethanol, and methanol (AHIRWAR et al., 2015). Methanol extract generally has the best biocide activity, followed by ethanol and water. The effectiveness of the extracts can be explained by the uneven distribution of metabolites in plant organs and by metabolites themselves extracted as a result of solvent polarity. The highest concentrations were likewise responsible for the best results.

In addition to the biocide action reported above, there are studies on *J. curcas* that indicate allelopathic properties, positive and negative, of its root, leaf, and stem extracts on other species such as *Brassica napus* (SILVA et al., 2012; ANTONELLI et al., 2016), *Hibiscus esculentus* (ABUGRE & SAM, 2010; ABUGRE et al., 2011), *Helianthus annuus* L. (SILVA et al., 2012), *Phaseolus vulgaris* (ABUGRE & SAM, 2010), *Cichorium intybus* (CREMONEZ et al., 2013), *Capsicum annum* L. (REJILA & VIJAYAKUMAR, 2011), *Lycopersicon lycopersicum* (ABUGRE & SAM, 2010), *Hypochoeris chillensis* (ROSSI et al., 2015), and *Zea mays* L. (ABUGRE & SAM, 2010; SILVA et al., 2012). The main allelopathy signals caused by *J. curcas* are reduction in root growth and changes in the fresh or dry matter weight of some other species. However, in *Triticum aestivum* (REICHEL et al., 2013), no activity was

observed. In contrast, a positive allelopathic effect was observed when soybean (*Glycine max*) seeds were placed to germinate in the presence of the root exudate of *J. curcas* (SILVA et al., 2012).

4 CONCLUSION

Studies on extracts of *Jatropha curcas* showed that this plant has stood out as promising in the formulation of new biocides. The range of their metabolites makes the use of solvents with different polarities necessary so that all the compounds are extracted in an efficient manner and then tested. Among the compounds with biocide effect, phorbol esters are most prominent for their high toxicity to most pests and fungi. However, studies should proceed particularly in testing the activity of these compounds on phytopathogenic bacteria.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the CAPES, CNPq, and FAPEMIG for granting scholarships.

DECLARATION OF CONFLICTING INTERESTS

We have no conflict of interest to declare.

5 REFERENCES

- ABDELGADIR, H.A.; VAN STADEN, J. Ethnobotany, ethnopharmacology and toxicity of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae): A review. **South African Journal of Botany**, v.88, p.204-218, 2013. Available at: <<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2013.07.021>>. Accessed: Nov. 17, 2017. doi: 10.1016/j.sajb.2013.07.021.
- ABIOVE. **Produção de Biodiesel por matéria prima**. 2019. Available at: <<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=estatistica&area=NC0yLTE=>>>. Accessed: Feb.16, 2019.
- ABUGRE, S. et al. Allelopathic effects of ten tree species on germination and growth of four traditional food crops in Ghana. **Journal of Agricultural Technology**, v.7, n.3, p.825-834, 2011. Available at: <http://ijat-aatsea.com/pdf/May_v7_n3_11/27%20IJAT2010_112F-R.pdf>. Accessed: Nov. 17, 2017.
- ABUGRE, S.; SAM, S.J.Q. Evaluating the allelopathic effect of *Jatropha curcas* aqueous extract on germination, radicle and plumule length of crops. **International**

- Journal of Agriculture & Biology**, v.12, n.5, p.769-772, 2010. Available at: <<http://www.fspublishers.org>>. Accessed: Nov. 17, 2017. doi: 10-012/MFA/2010/12-5-769-772.
- ACDA, M.N. Toxicity, tunneling and feeding behavior of the termite, **Coptotermes vastator**, in sand treated with oil of the physic nut, **Jatropha curcas**. **Journal of Insect Science**, v.9, n.64, p.1-8, 2009. Available at: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3011962/>>. Accessed: Oct. 20, 2017. doi: 10.1673/031.009.6401.
- ADEBOWALE, K.O.; ADEDIRE, C.O. Chemical composition and insecticidal properties of the underutilized **Jatropha curcas** seed oil. **African Journal of Biotechnology**, v.5, n.10, p.901-906, 2006. Available from: <<http://www.academicjournals.org/AJB>>. Accessed: Nov. 20, 2017.
- AGBOKA, K. et al. Effects of plant extracts and oil emulsions on the maize cob borer **Mussidia nigrivenella** (Lepidoptera: Pyralidae) in laboratory and field experiments. **International Journal of Tropical Insect Science**, v.29, n.4, p.185-194, 2009. Available at: <<https://doi.org/10.1017/S1742758409990348>>. Accessed: Nov. 13, 2017. doi: 10.1017/S1742758409990348.
- AHIRWAR, R.K. et al. Antimicrobial Activities of different plant extracts of **Jatropha curcas** Linn. **Bulletin of Environmental and Scientific Research**, v.4, n.1-2, p.21-28, 2015. Available at: <<http://www.besr.org.in>>. Accessed: Oct. 29, 2017.
- AHUCHAOGU, C.E.; OJIAKO, F.O. Comparative study of the toxic effects of **Jatropha curcas** L. extracts and Actellic 25 E.C[®] on **Callosobruchus maculatus** (Fabricius) (Coleoptera:Bruchidae) in stored cowpea. **FUTA Journal of Research in Sciences**, v.11, n.2, p.231-242, 2015. Available at: <<https://www.fjrs.futa.edu.ng>>. Accessed: Nov. 13, 2017.
- AHUCHAOGU, C.E. et al. Evaluation of **Jatropha curcas** Lam. extracts in the control of some field insect pests of cowpea (**Vigna unguiculata** L. Walp). **International Journal of Scientific & Technology Research**, v.3, n.3, p.136-141, 2014. Available at: <<http://www.ijstr.org>>. Accessed: Nov. 13, 2017.
- AL-SAMAN, M.A. et al. Bioactivity of lectin from Egyptian **Jatropha curcas** seeds and its potentiality as antifungal agent. **Global Advanced Research Journal of Microbiology**, v.4, n.7, p.87-97, 2015. Available at: <<http://garj.org/garjm>>. Accessed: July. 20, 2017.

- ANTONELLI, J. et al. Allelopathic effect of irrigation with different concentrations of leaf extracts of **Jatropha curcas** L. on growth **Brassica oleracea**. **African Journal of Agricultural Research**, v.11, n.9, p.779-782, 2016. Available at: <<https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7692>>. Accessed: Jan. 29, 2017. doi: 10.5897/AJAR2013.7692.
- AREKEMASE, M.O. et al. Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of **Jatropha curcas** Plant against Some Selected Microorganisms. **International Journal of Biology**, v.3, n.3, p.52-59, 2011. Available at: <<http://dx.doi.org/10.5539/ijb.v3n3p52>>. Accessed: Jan. 29, 2017. doi: 10.5539/ijb.v3n3p52.
- ASHRAF, M.A. et al. Green biocides, a promising technology: current and future applications to industry and industrial processes. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n.3, p.388-403, 2014.
- ASMANIZAR, D.A.; IDRIS, A.B. Evaluation of **Jatropha curcas** and **Annona muricata** seed crude extracts against **Sitophilus zeamais** infesting stored rice. **Journal of Entomology**, v.9, n.1, p.13-22, 2011. Available at: <<http://docsdrive.com/pdfs/academicjournals/je/2012/13-22.pdf>>. Accessed: Feb. 04, 2017. doi: 10.3923/je.2012.13.22.
- BASHIR, E.M.; EL-SHAFIE, H.E.F. Insecticidal and antifeedant efficacy of **Jatropha** oil extract against the Desert Locust, **Schistocerca gregaria** (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae). **Agriculture and Biology Journal of North America**, v.4, n.3, p.260-267, 2013. Available at: <<http://www.scihub.org/ABJNA>>. Accessed: Nov. 11, 2017. doi: 10.5251/abjna.2013.4.3.260.267
- BASSEY, I.N. et al. Combined antifungal effects of extracts of **Jatropha curcas** and **Chromolaena odorata** on seed borne fungi of **Solanum gilo** Raddi. **Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences**, v.2, n.2, p.13-17, 2013. Available at: <http://www.beppls.com/jan_2013/4.pdf>. Accessed: Jan. 30, 2017.
- BERG, A.J.J. et al. Curcacycline A - A novel cyclic octapeptide isolated from the latex of **Jatropha curcas** L. **FEBS Letters**, v.358, p.215-218, 1995. Available at: <[http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/0014-5793\(94\)01405-P/epdf](http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/0014-5793(94)01405-P/epdf)>. Accessed: Nov. 13, 2017. doi: 10.1016/0014-5793(94)01405-P.
- BESERRA, F.P. et al. **Jatropha curcas** L. (Euphorbiaceae) como novo bioinseticida: análise fitoquímica preliminar e atividade larvívica contra **Aedes aegypti** (Diptera:

- Culicidae). **Revista Amazônia**, v.2, n.3, p.17-25, 2014. Available at: <<http://ojs.unirg.edu.br/index.php/2/article/view/644>>. Accessed: Jan. 30, 2017.
- BRASILEIRO, B.G. et al. Floral biology and characterization of seed germination in physic nut (**Jatropha curcas** L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.34, n.4, p.556-562, 2012. Available at: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-31222012000400005>. Accessed: July. 10, 2017. doi: 10.1590/S0101-31222012000400005.
- BOATENG, B.A.; KUSI, F. Toxicity of **Jatropha** seed oil to **Callosobruchus maculatus** (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid, **Dinarmus basalis** (Hymenoptera: Pteromalidae). **Journal of Applied Sciences Research**, v.4, n.8, p.945-951, 2008. Available at: <<http://www.scimagojr.com/journalsearch.php?q=17600155105&tip=sid>>. Accessed: Jan. 29, 2017.
- BOTTI, J.M.C. et al. Controle alternativo do **Brevicoryne brassicae** (Hemiptera: Aphididae) com extratos de diferentes espécies de plantas. **Agrária - Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.10, n.2, p.178-183, 2015. Available at: <<http://www.agraria.pro.br/ojs-2.4.6/index.php?journal=agraria&page=index>>. Accessed: Jan. 29, 2017. doi: 10.5039/agraria.v10i2a3520.
- CHAUHAN, N. et al. Antibacterial potential of **Jatropha curcas** synthesized silver nanoparticles against food borne pathogens. **Frontiers Microbiology**, v.6, p.1-13, 2016.
- CÓRDOVA-ALBORES, L.C. et al. Morphological and molecular characterization of pathogenic isolates of **Fusarium** spp. obtained from gladiolus corms and their sensitivity to **Jatropha curcas** L. oil. **African Journal of Microbiology Research**, v.8, n.8, p.724-733, 2014. Available at: <http://www.academicjournals.org/article/article1392646882_Albores%20et%20al.pdf>. Accessed: Jan. 28, 2017. doi: 10.5897/AJMR2013.6413.
- CÓRDOVA-ALBORES, L.C. et al. Microscopic study of the morphology and metabolic activity of **Fusarium oxysporum** f. sp. gladioli treated with **Jatropha curcas** oil and derivatives. **Journal of Microscopy Ultrastructure**, v.4, n.1, p.28-35, 2016. Available at: <<https://doi.org/10.1016/j.jmau.2015.10.004>>. Accessed: Jan. 28, 2017. doi: 10.1016/j.jmau.2015.10.004.

- CREMONEZ, P.A. et al. Allelopathic influence of the aqueous extract of **Jatropha curcas** L. leaves on wild **Cichorium intybus**. **African Journal of Agricultural**, v.8, n.49, p.6575-6578, 2013. Available at: <<https://doi.org/10.5897/AJAR2013.7667>>. Accessed: Jan. 31, 2017. doi: 10.5897/AJAR2013.7667.
- DAHMER, N. et al. Chromosome numbers of **Jatropha curcas** L: an important agrofuel plant. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.9, n.4, p.386-389, 2009. Available at: <<http://www.sbmp.org.br/cbab/siscbab/>>. Accessed: Dec. 13, 2017. doi: 10.12702/1984-7033.v09n04a14.
- DANISH, M. et al. In Vitro studies on phytochemical screening of different leaf extracts and their antifungal activity against seed borne pathogen **Aspergillus niger**. **Journal Plant Pathology Microbiology**, v.6, n.11, p.1-5, 2015. Available at: <<http://dx.doi.org/10.4172/2157-7471.1000320>> Accessed: Jan. 29, 2017. doi: 10.4172/2157-7471.1000320.
- DEBNATH, M.; BIEN, P.S. **Jatropha curcas** L, a multipurpose stress resistant plant with a potential for ethnomedicine and renewable energy. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v.9, n.4, p.288-306, 2008. Available at: <<http://www.eurekaselect.com/67450/article>>. Accessed: Jan. 29, 2017. doi: 10.2174/138920108785161541.
- DEVAPPA, R.K. et al. **Jatropha** toxicity - a review. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v.13, n.6, p.476-507, 2010. Available at: <<https://doi.org/10.1080/10937404.2010.499736>>. Accessed: Jan. 29, 2017. doi: 10.1080/10937404.2010.499736.
- DEVAPPA, R.K. et al. **Jatropha** diterpenes - a review. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v.88, n.3, p.301-322, 2011. Available at: <<https://doi.org/10.1007/s11746-010-1720-9>>. Accessed: Jan. 29, 2017. doi: 10.1007/s11746-010-1720-9.
- DEVAPPA, R.K. et al. Localisation of antinutrients and qualitative identification of toxic components in **Jatropha curcas** seed. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.92, p.1519-1525, 2012. Available at: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.4736/pdf>>. Accessed: Jan. 29, 2017. doi: 10.1002/jsfa.4736.
- DIAS, L.A.S. et al. **Cultivo de pinhão manso (Jatropha curcas)**. Viçosa: UFV, 2007.

- DIAS, L.A.S. Biofuel plant species and the contribution of genetic improvement. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* S1, p.16-26, 2011. Available at: <<http://www.scielo.br/pdf/cbab/v11nspe/04.pdf>>. Accessed: Jan. 31, 2017. doi: 10.1590/S1984-70332011000500004.
- DIAS, L.A.S. et al. Antiquity, botany, origin and domestication of **Jatropha curcas** (Euphorbiaceae), a plant species with potential for biodiesel production. **Genetics and Molecular Research**, v.11, n.3, p.2719-2728, 2012. Available at: <<http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2012/vol11-3/pdf/gmr2043.pdf>>. Accessed: Jan. 31, 2017. doi: 10.4238/2012.June.25.6.
- DIVAKARA, B.N. et al. Biology and genetic improvement of *Jatropha curcas* L.: A review. **Applied Energy**, v.87, p.732-742, 2010.
- DOWLATHABAD, M.R. et al. Pharmaceutical investigation and biopesticidal activity of **Jatropha curcas** L. seed oil on digestive enzymic profiles of **Cnaphalocrocis medinalis** (rice leaf folder) and **Helicoverpa armigera** (cotton boll worm). **International Research Journal of Pharmacy**, v.1, n.1, p.194-200, 2010. Available at: <<http://www.irjponline.com/admin/php/uploads/first-issue/30.pdf>>. Accessed: Feb. 02, 2017.
- EL-NOUR, M.E.M. et al. Antifungal activities and phytochemical screening of seeds, leaves and callus (hypocotyls and cotyledons) extracts of **Jatropha curcas** L. **Journal of Advances in Biology**, v.8, n.3, p.1623-1628, 2015. Available at: <<https://cirworld.com/index.php/jab/article/view/4484>>. Accessed: Jan. 29, 2017.
- GAIKWAD, R.S. et al. In vitro antimicrobial activity of crude extracts of *Jatropha* species. **Current Botany**, v.3, n.3, p.9-15, 2012. Available at: <http://eprints.icrisat.ac.in/12833/1/CurrentBotany_3_3_9-15_2012.pdf>. Accessed: Jan. 29, 2017.
- GARCÍA, A.A.; CARRIL, E.P.U. Metabolismo secundário de plantas. **Reduca (Biología): Serie Fisiología Vegetal**, v.2, n.3, p.119-145, 2009. Available at: <<http://revistareduca.es/index.php/biologia/article/view/798/814>>. Accessed: Feb. 04, 2017.
- GOEL, G. et al. Phorbol esters: structure, biological activity, and toxicity in animals. **International Journal of Toxicology**, v.26, n.4, p.279-288, 2007. Available at: <<http://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1080/10915810701464641>>. Accessed: Feb. 20, 2017. doi: 10.1080/10915810701464641.

- GONÇALVES, S.B. et al. **Substâncias tóxicas, alergênicas e antinutricionais presentes no pinhão-manso e seus derivados e procedimentos adequados ao manuseio**. Brasília: Embrapa, 2009. 5p. (Circular Técnica).
- HAAS, W. et al. Novel 12-deoxy-16-hydroxyphorbol diesters isolated from the seed of **Jatropha curcas**. **Journal of Natural Products**, v.65, n.10, p.1434-1440, 2002. Available at: <<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/np020060d>>. Accessed: Feb. 02, 2017. doi: 10.1021/np020060d.
- HAAS, W.; MITTELBAACH, M. Detoxification experiments with the seed oil from **Jatropha curcas** L. **Industrial Crops and Products**, v.12, n.2, p.111-118, 2000. Available at: <[https://doi.org/10.1016/S0926-6690\(00\)00043-1](https://doi.org/10.1016/S0926-6690(00)00043-1)>. Accessed: Feb. 20, 2017. doi: 10.1016/S0926-6690(00)00043-1.
- HABOU, Z.A. et al. Insecticidal effect of **Jatropha curcas** L. seed oil on **Callosobruchus maculatus** Fab and **Bruchidius atrolineatus** Pic (Coleoptera: Bruchidae) on stored cowpea seeds (**Vigna unguiculata** L.Walp) in Niger. **African Journal of Agricultural Research**, v.9, n.32, p.2506-2510, 2014. Available at: <<http://www.academicjournals.org>>. Accessed: Nov. 17, 2017. doi: 10.5897/AJAR2013.7578.
- HABOU, Z.A. et al. Insecticidal effect of **Jatropha curcas** oil on the aphid **Aphis fabae** (Hemiptera: Aphididae) and on the main insect pests associated with cowpeas in Niger. **Tropicicultura**, v.29, n.4, p.225-229, 2011. Available at: <<http://hdl.handle.net/2268/113299>>. Accessed: Nov. 17, 2017.
- HARTMANN, T. Plant-derived secondary metabolites as defensive chemicals in herbivorous insects: a case study in chemical ecology. **Planta**, v.219, p.1-4, 2004.
- HE, W. et al. Analysis of seed phorbol-ester and curcin content together with genetic diversity in multiple provenances of **Jatropha curcas** L. from Madagascar and Mexico. **Plant Physiology Biochemistry**, v.49, n.10, p.1183-1190, 2011. Available at: <<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.07.006>>. Accessed: Aug. 16, 2017. doi: 10.1016/j.plaphy.2011.07.006.
- HELLER, J. **Physic nut**. **Jatropha curcas** L.: promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Rome: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 66p.
- HOLTZ, A.M. et al. Controle alternativo de *Planococcus citri* (Risso, 1813) com extratos aquosos de pinhão-manso. **Agricultural Entomology**, v.83, p.1-6, 2016.

- Available at: <<http://www.scielo.br/pdf/aib/v83/1808-1657-aib-83-e1002014.pdf>>. Accessed: Feb. 02, 2017. doi: 10.1590/1808-1657001002014.
- IGBINOSA, O.O. et al. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from **Jatropha curcas** (Linn). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.3, n.2, p.58-62, 2009. Available at: <<http://citeseerx.ist.psu.edu>>. Accessed: Feb. 12, 2018.
- INGLE, K.P. et al. Bioefficacy of crude extracts from **Jatropha curcas** against **Spodoptera litura**. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v.5, n.1, p.36-38, 2017. Available at: <<http://www.entomoljournal.com>>. Accessed: May. 5, 2017.
- INGLE, K.P. et al. Screening of insecticidal activity of **Jatropha curcas** (L) against diamond back moth and **Helicoverpa armigera**. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v.5, n.1, p.44-50, 2017.
- JARAMILLO-QUINTERO, L.P. et al. Cytotoxic effect of the immunotoxin constructed of the ribosome-inactivating protein curcin and the monoclonal antibody against Her2 receptor on tumor cells. **Bioscience Biotechnology Biochemistry**, v.79, n.6, p.1-11, 2015. Available at: <<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09168451.2015.1006572>>. Accessed: Nov. 11, 2017. doi: 10.1080/09168451.2015.1006572.
- JAYAKUMAR, G. et al. Ethnobotanical survey of the plants used in treatment of diabetes. **Indian Journal of Traditional Knowledge**, v.9, n.1, p.100-104, 2010. Available at: <<http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/7162>>. Accessed: Aug. 29, 2017. doi: 10.1016/j.jep.2017.01.023.
- JING, L. et al. Toxic impact of ingested Jatropherol – I on selected enzymatic activities and the ultrastructure of midgut cells in silkworm, **Bombyx mori** L. **Journal of Applied Entomology**, v.129, n.2, p.98-104, 2005. Available at: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0418.2005.00939.x/abstract>>. Accessed: Aug. 29, 2017. doi: 10.1111/j.1439-0418.2005.00939.x.
- KATIYAR, A. Exploration of certain indigenous phyto-chemicals against bihar hairy caterpillar, **Spilarctia obliqua** Walk. **Journal of Experimental Zoology**, v.19, n.1, p.421-423, 2016. Available at: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20163131650>>. Accessed: Jan. 29, 2017.

- KATOUNE, H.I. et al. Physic nut (**Jatropha curcas**) oil as a protectant against field insect pests of cowpea in Sudano-Sahelian cropping systems. **Journal of SAT Agricultural Research**, v.9, p.1-6, 2011. Available at: <<http://oar.icrisat.org/id/eprint/4715>>. Accessed: Feb. 02, 2017.
- KHANI, M. et al. Tropical medicinal plant extracts against rice weevil, **Sitophilus oryzae** L. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.5, n.2, p.259-265, 2011. Available from: <<http://www.academicjournals.org>>. Accessed: Jan. 29, 2017.
- KUMAR, A.; SHARMA, S. An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses (**Jatropha curcas** L.): a review. **Industrial Crops and Products**, v.28, n.1, p.1–10, 2008. Available at: <<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.01.001>>. Accessed: Jan. 29, 2017. doi: 10.1016/j.indcrop.2008.01.001.
- LATEEF, F.A. et al. Insecticidal Effect of **Jatropha curcas** Oil Phorbol Esters on the Nymph, Adult Cockroaches and Termites. **International Journal of Applied Sciences and Engineering Research**, v.3, n.2, p.495-503, 2014. Available at: <<http://citeseerx.ist.psu.edu>>. Accessed: Jan. 31, 2017. doi: 10.5251/abjna.2013.4.3.260.267.
- LAVIOLA, B.G. et al. Desempenho agronômico e ganho genético pela seleção de pinhão-mansão em três regiões do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.5, p.356-363, 2014. Available at: <<http://www.scielo.br/pdf/pab/v49n5/0100-204X-pab-49-05-0356.pdf>>. Accessed: Jan. 31, 2017. doi: 10.1590/S0100-204X2014000500005.
- LEITE, J.P.V. Química dos produtos naturais: uma abordagem biossintética. In: LEITE, J.P.V. **Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas**. 1.ed. São Paulo: Atheneu, 2009. cap. 3, p. 47-97.
- MACHADO, O.L.T.; SILVA JR, J.G. An allergenic 2S storage protein from **Ricinus communis** seeds which is part of the 2S albumin precursor predicted by c-DNA data. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.25, n.6, p.567-582, 1992. Available at: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1342233>>. Accessed: Sep. 19, 2017.
- MAKUN, H.A. et al. Antifungal activities of **Jatropha curcas** and **Ricinus cumunis** seeds on **Fusarium verticillioides** and **Aspergillus flavus** in yam. **Journal of Agricultural and Biological Science**, v.6, n.6, p.22-27, 2011. Available at: <<http://www.arpnjournals.com>>. Accessed: Feb. 04, 2017.

- MORAGAS, W.M.; SCHNEIDER, M.O. Biocidas: suas propriedades e seu histórico no Brasil. **Caminhos de Geografia**, v.3, n.10, p.26-40, 2003. Available at: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/caminhosdegeografia>>. Accessed: Aug. 29, 2017.
- MOREIRA, M.D. et al. Toxicity of leaf extracts of **Ageratum conyzoides** to Lepidoptera pests of horticultural crops. **Biological Agriculture and Horticulture**, v.22, n.3, p.251-260, 2004. Available at: <<https://doi.org/10.1080/01448765.2004.9755288>>. Accessed: Aug. 29, 2017. doi: 10.1080/01448765.2004.9755288.
- MUNIZ, D.R. (2019) **Potencial biocida de Jatropha curcas L.** 72f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- MUSA, A.K. et al. Costs analysis and toxicity of **Jatropha curcas** L. on maize weevil, **Sitophilus zeamais** Motsch. **African Journal of Plant Science**, v.5, n.4, p.233-236, 2011. Available at: <<http://www.academicjournals.org>>. Accessed: Feb. 04, 2017.
- NABIL, A.E.A.; YASSER, A.M.K. **Jatropha curcas** oil as insecticide and germination promoter. **Journal of Applied Sciences Research**, v.8, n. 2, p.668-675, 2012. Available at: <<http://www.scimagojr.com/journalsearch.php?q=17600155105&tip=sid>>. Accessed: Feb. 04, 2017.
- NAYAK, B.S.; PATEL, K.N. Anti-inflammatory screening of **Jatropha curcas** root, stem and leaf in albino rats. **Romanian Journal of Biology Plant-Biology**, v.55, n.1, p.9-13, 2010. Available at: <<http://ns.ibiol.ro/plant/volume%2055/art02.pdf>>. Accessed: Aug. 29, 2017.
- OGBEBOR, O.N.; ADEKUNLE, A.T. Inhibition of **Drechslera heveae** (Petch) M. B. Ellis, causal organism of Bird's eye spot disease of rubber (**Hevea brasiliensis** Muell Arg.) using plant extracts. **African Journal of General Agriculture**, v.4, n.1, p.19-26, 2008. Available at: <<http://www.asopah.org/journals/ajga/ajga4/ajga410407073.pdf>>. Accessed: Feb. 04, 2017.
- OGBEBOR, O.N. et al. Inhibition of **Colletotrichum gloeosporioides** (Penz) Sac. causal organism of rubber (**Hevea brasiliensis** Muell. Arg.) leaf spot using plant

- extracts. **African Journal of Biotechnology**, v.6, n.3, p.213-218, 2007. Available at: <<http://www.academicjournals.org>>. Accessed: Feb. 04, 2017.
- OJIAKO, F.O. et al. Comparative bioactivity of different solvent extracts of the root and seeds of **Jatropha curcas** L. and Chlorpyrifos against tailor ants (**Oecophylla longinoda** Latreille) (Hymenoptera: Formicidae). **FUTO Journal Series**, v.1, n.2, p.118-211, 2015. Available at: <<http://www.futojnls.org/>>. Accessed: Nov. 13, 2017.
- OLIVEIRA, M. Óleo para o biodiesel. **Pesquisa FAPESP**, v.245, p.68-71, 2016. Available at: <<http://revistapesquisa.fapesp.br/2016/07/14/oleo-para-o-biodiesel/>>. Accessed: Out. 28, 2017.
- OPUBA S.K. et al. Insecticidal and anti-ovipositional activities of the leaf powder of **Jatropha curcas** (L.) (Euphorbiaceae) against **Callosobruchus maculatus** (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae). **Animal Research International**, v.15, n.1, p.2971-2978, 2018.
- PATIL, C.D. et al. Trypsin inactivation by latex fabricated gold nanoparticles: A new strategy towards insect control. **Enzyme and Microbial Technology**, n.92, p.18-25, 2016.
- PREMALATHA, K. et al. Acaricidal activity of plant extracts on two spotted spider mite, **Tetranychus urticae** Koch (Acari: Tetranychidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v.6, n.1, p.1622-1625, 2018.
- RAMPADARATH, S. et al. **Jatropha curcas** L: Phytochemical, antimicrobial and larvicidal properties. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.6, n.10, p.858-865, 2016. Available at: <<https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.01.019>>. Accessed: May. 31, 2017. doi: 10.1016/j.apjtb.2016.01.019.
- RATNADASS, A. et al. Potential of sorghum and physic nut (**Jatropha curcas**) for management of plant bugs (Hemiptera: Miridae) and cotton bollworm (**Helicoverpa armigera**) on cotton in an assisted trap-cropping strategy. **Journal of SAT Agricultural Research**, v.7, p.1-7, 2009. Available at: <<http://ejournal.icrisat.org>>. Accessed: Jan. 29, 2017.
- REICHEL, T. et al. Allelopathy of leaf extracts of jatropha (**Jatropha curcas** L.) in the initial development of wheat (**Triticum aestivum** L.). **Idesia**, v.31, n.1, p. 2013. Available at: <<https://scielo.conicyt.cl/pdf/idesia/v31n1/art06.pdf>>. Accessed: Feb. 02, 2017.

- REJILA, S.; VIJAYAKUMAR, N. Allelopathic effect of **Jatropha curcas** on selected intercropping plants (Green Chilli and Sesame). **Journal of Phytology**, v.3, n.5, p.1-3, 2011. Available at: <<http://updatepublishing.com/journal/index.php/jp/article/view/2253>>. Accessed: Feb. 01, 2017.
- RIBEIRO, R.M. et al. **Agroenergia na mitigação das mudanças climáticas globais, na segurança energética e na promoção social**. Viçosa: Suprema, 2011. 201p.
- ROQUE, J.V. et al. Multivariate Calibration to determine phorbol esters in seeds of **Jatropha curcas** L. using near infrared and ultraviolet spectroscopies. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.28, n.8, p.1-11, 2017. Available at: <<http://www.scielo.br/pdf/jbchs/v28n8/0103-5053-jbchs-28-08-1506.pdf>>. Accessed: Jun. 26, 2017. doi: 10.21577/0103-5053.20160332.
- ROY, S. et al. Comparative performances of jatropha oil and garlic oil with synthetic acaricides against red spider mite infesting tea. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.88, n.1, p.85-91, 2016.
- SABANDAR, C.W. et al. Medicinal property, phytochemistry and pharmacology of several **Jatropha** species (Euphorbiaceae): A review. **Phytochemistry**, v.85, p.7-29, 2013. Available at: <<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.10.009>>. Accessed: Nov. 11, 2017. doi: 10.1016/j.phytochem.2012.10.009.
- SACHDEVA, K. et al. Pharmacological evaluation of **Jatropha curcas** Linn (stem bark) for wound healing potential in rats. **Pharmacologyonline**, v.3, p.251-264, 2011a. Available at: <<http://pharmacologyonline.silae.it>>. Accessed: Feb. 04, 2017.
- SACHDEVA, K. et al. Evaluation of analgesic and antimicrobial activity of stem bark extract of **Jatropha curcas**. **International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy**, v.2, n.2, p.572-576, 2011b. Available at: <<http://www.ijrap.net>>. Accessed: Nov. 11, 2017.
- SAETAE, D.; SUNTORNSUK, W. Antifungal activities of ethanolic extract from **Jatropha curcas** seed cake. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.20, n.2, p.319-324, 2010. Available at: <<http://www.jmb.or.kr>>. Accessed: Feb. 04, 2017. doi: 10.4014/jmb.0905.05035.
- SAHIDIN, S. et al. Terpenoids from the stem bark of **Jatropha** plants and their biological activities. **Makara Sains**, v.15, n.2, p.106-110, 2011. Available at: <<http://www.ijil.ui.ac.id/index.php/science/article/viewFile/1058/971>>. Accessed: Feb. 04, 2017.

- SAVALIYA, V.A. et al. Evaluation of phytoextracts against *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid causing root rot of sesame. **Journal of Biopesticides**, v.8, n.2, p.116-119, 2015. Available at: <<http://www.jbiopest.com>>. Accessed: Jan. 29, 2017.
- SHANG, X.Y. et al. Research Advances in the Chemical Constituents and Pharmacological Activities of *Jatropha curcas* L. **Asian Journal of Traditional Medicines**. V.12, n.4, p.158-169, 2017. Available at: <<http://asianjtm.syphu.edu.cn/CN/article/downloadArticleFile.do?attachType=PDF&id=342>>. Accessed: Aug. 31, 2018.
- SHARMA, N. Evaluation of *Jatropha curcas* as Potential Biocide and Biopesticide. **International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology**, v.4, n.6, p.92-97, 2017. Available at: <<http://www.ijcrbp.com/>>. Accessed: Nov. 13, 2017.
- SILVA, G.N. et al. Bioactivity of *Jatropha curcas* L. to insect pests stored products. **Journal of Stored Products Research**. v.48, p.111-113, 2012.
- SILVA, H.D. et al. Bioatividade dos extratos aquosos de plantas às larvas da mosca-das-frutas, *Ceratitis capitata* (Wied.). **Plant Parasitology**, v.82, p.1-4, 2015. Available at: <<http://www.scielo.br/pdf/aib/v82/1808-1657-aib-000132013.pdf>>. Accessed: Nov. 11, 2017. doi: 10.1590/1808-1657000132013.
- SILVA, P.S.S. et al. Atividade alelopática do exsudato radicular de *Jatropha curcas* L. sobre plântulas de *Brassica napus* L., *Glycine max* L., *Zea mays* L. e *Helianthus annuus* L. **Insula Revista de Botânica**, n.41, p.32-41, 2012. Available at: <<http://dx.doi.org/10.5007/2178-4574.2012n41p32>>. Accessed: Mar. 29, 2017. doi: 10.5007/2178-4574.2012n41p32.
- SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS: Florianópolis: Editora da UFSC, 2010. 1104p.
- SIVA, N. et al. Antifungal effect of leaf extract of some medicinal plants against *Fusarium oxysporum* causing wilt disease of *Solanum melogena* L. **Ethnobotanical Leaflets**, v.12, p.156-163, 2008. Available at: <<http://opensiuc.lib.siu.edu>>. Accessed: Feb. 04, 2017.
- SRISVATAVA, S. et al. Antifungal activity of *Jatropha curcas* oil against some seed-borne fungi. **Plant Pathology Journal**, v.11, n.4, p.120-123, 2012. Available at: <<http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/ppj/2012/120-123.pdf>>. Accessed: Jan. 29, 2017. doi: 10.3923/ppj.2012.120.123.

- SUHAILI, Z. et al. Antibacterial profile of **Jatropha curcas** latex extracts against selected human pathogenic bacteria. **African Journal of Microbiology Research**, v.5, n.29, p.5147-5154, 2011. Available at: <<http://www.academicjournals.org/ajmr>>. Accessed: Nov. 13, 2017. doi: 10.5897/AJMR11.663.
- THANGAVELU, R. et al. Management of anthracnose disease of banana caused by **Colletotrichum musae** using plant extracts. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.79, n.4, p.664-668, 2004. Available at: <<https://doi.org/10.1080/14620316.2004.11511823>>. Accessed: Aug. 07, 2017. doi: 10.1080/14620316.2004.11511823.
- THOMAS, R. et al. Therapeutic Biology of **Jatropha curcas**: a mini review. **Current Pharmaceutical Biotechnology**, v.9, n.4, p.315-324, 2008. Available at: <<http://www.eurekaselect.com/67452/article>>. Accessed: Nov. 10, 2017. doi: 10.2174/138920108785161505.
- TORRES, A.L. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de **Plutella xylostella** (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**, v.30, n.1, p.151-156, 2001. Available at: <<http://www.scielo.br/pdf/ne/v30n1/16984.pdf>>. Accessed: Nov. 20, 2017. doi: 10.1590/S1519-566X2001000100022.
- TRIVEDI, A. et al. Recent advances and review on use of botanicals from medicinal and aromatic plants in stored grain pest management. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, n.6, v.3, p.295-300, 2018.
- UMA, M.S.; KUMAR, A.R.V. Laboratory evaluation of some botanicals against diamond back moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: plutellidae). **Pest Management in Horticultural Ecosystems**. v.15, n.1, p.41-47, 2009.
- VERMA, M. et al. Efficacy of karanjin and phorbol ester fraction against termites (**Odontotermes obesus**). **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.65, n.3, p.877-882, 2011. Available at: <<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2011.05.007>>. Accessed: Nov. 13, 2017. doi: 10.1016/j.ibiod.2011.05.007.
- VERMA, S. et al. Determination of phytochemicals of **Jatropha curcas** root by GC-MS analysis and their termiticidal activity. **International Journal of Ecology and Environmental Sciences**, v.39, n.3, p. 159-169, 2013.
- XU, W. et al. Genetic diversity in the *Jatropha* genus and its potential application. **Plant Sciences Reviews**. 2012.

- WEI, Q. et al. Isolation, characterization and antifungal activity of β -1,3-glucanase from seeds of **Jatropha curcas**. **South African Journal of Botany**, v.71, n.1, p.95-99, 2005. Available at: <[https://doi.org/10.1016/S0254-6299\(15\)30155-1](https://doi.org/10.1016/S0254-6299(15)30155-1)>. Accessed: Apr. 05, 2017. doi: 10.1016/S0254-6299(15)30155-1.
- WEI, Q. et al. Antifungal activity of curcin from **Jatropha curcas** seeds. **Chinese Journal of Oil Crop Sciences**, v.26, n.3, p.71-75, 2004. Available at: <<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20053031179>>. Accessed: Apr. 05, 2017.
- WIESBROOK, ML. Natural indeed: Are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide Review**, v.17, n.3, p.1-3, 2004. Available at: <<https://www.ideals.illinois.edu>>. Accessed: May. 06, 2017.
- YANG, S. et al. Proteomic analysis of latex from **Jatropha curcas** L. stems and comparison of two classic proteomic sample isolation methods: The phenol extraction and the TCA/acetone extraction. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.27, p.14-24, 2017. Available at: <<https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2017.01.006>>. Accessed: Nov. 13, 2017. doi: 10.1016/j.ejbt.2017.01.006.
- ZAIDAN, I. (2018) **Potencial biocida de extratos de Jatropha curcas L. sobre Hemileia vastatrix e Cercospora coffeicola**. 53f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

Table 1. Parts and extracts of *Jatropha curcas* L. used in pest control

Insect	Pest of	Solvent	Plant organ	References
<i>Aphis fabae</i> Scop.	Cowpea	Ethanol	Oil from the seed	Botti et al. (2015); Habou et al. (2011)
<i>Aphids crassivora</i>	Cowpea	Acetone	Oil from the seed	Ahuchaogu et al. (2014)
<i>Bactrocera zonata</i>	Peach	Ethyl acetate; methanol	Oil from the seed; leaf; stem	Rampadarath et al. (2016)
<i>Bactrocera cucurbitae</i>	Melon	Ethyl acetate; methanol	Oil from the seed; leaf; stem	Rampadarath et al. (2016)
<i>Brevicoryne brassicae</i>	Cabbage	Water	Oil from the seed	Botti et al. (2015)
<i>Callosobruchus maculatus</i>	Cowpea	Water; ethanol; acetone	Oil from the seed	Boateng and Kusi (2008); Habou et al. (2014); Ahuchaogu & Ojiako (2015); Opuba et al. (2018)
<i>Ceratitis capitata</i> (Wied)	Different kinds of fruits	Water	Leaf	Silva et al. (2015)
<i>Clavigralla tomentosicollis</i>	Cowpea	Ethanol	Oil from the seed	Katoune et al. (2011)
<i>Cnaphalocrocis medinalis</i>	Rice	Methanol; ethanol; petroleum ether	Oil from the seed	Dowlathabad et al. (2010)
<i>Coptotermes vastator</i>	Different kinds of timber	Crude oil	Oil from the seed	Acda (2009)
<i>Helicoverpa armigera</i>	Cotton	Water; methanol; ethanol; petroleum ether	Oil from the seed	Ratnadass et al. (2009); Dowlathabad et al. (2010)
<i>Maruca testulalis</i>	Cowpea	Acetone	Oil from the seed	Ahuchaogu & Ojiako (2015)
<i>Megalurothrips sjostedti</i>	Cowpea	Ethanol; acetone	Oil from the seed	Katoune et al. (2011); Ahuchaogu & Ojiako (2015)
<i>Microtermes obesi</i>	Different agricultural plants	Butanol; ether; hexane; methanol	Leaf; root; stem bark	Verma et al. (2013)

<i>Mussidia nigrivenella</i>	Maize	Water	Oil from the seed	Agboka et al. (2009)
<i>Odontotermes obesus</i>	Different perennial crops	Methanol	Oil from the seed	Verma et al. (2011)
<i>Odontotermes</i> sp	Different stored crops and grains	Crude oil	Oil from the seed	Lateef et al. (2014)
<i>Oecophylla longinoda</i>	Different forest trees	Ethanol; acetone; water	Root; seed	Ojiako et al. (2015)
<i>Oligonychus coffeae</i>	Different tea-growing	Crude oil	Oil from the seed	Roy et al. (2016)
<i>Planococcus citri</i>	Coffee	Water	Oil from the seed; leaf; stem (without bark); stem bark; fruit peel	Holtz et al. (2016);
<i>Plutella xylostella</i>	Cabbage	Hexane	Oil from the seed	Ingle et al (2017)
<i>Schistocerca gregaria</i>	Different kinds of crops	Hexane	Oil from the seed	Bashir & El-Shafie (2013)
<i>Sitophilus granaries</i>	Stored grains	Petroleum ether	Oil from the seed	Nabil & Yasser (2012)
<i>Sitophilus oryzae</i> L.	Rice	Chloroform; petroleum ether	Oil from the seed	Khani et al. (2011)
<i>Sitophilus zeamais</i>	Cereal seeds (rice, maize, etc)	Acetone; petroleum ether;	Oil from the seed; seed	Asmanizar & Idris (2011); Musa et al. (2011)
<i>Spilactia obliqua</i> Walk	Oilseed crops, vegetables, and medicinal plants	Benzene	Leaf	Katiyar (2016)
<i>Spodoptera frugiperda</i>	maize, rice, sugarcane, cotton	Methanol	Oil from the seed	Devappa et al. (2012)
<i>Spodoptera litura</i>	Cotton, rice, tobacco, etc.	Methanol	Leaf; stem; seed; seed hull; root	Ingle et al. (2017)
<i>Tetranychus urticae</i>	Okra	Water	Leaf	Premalatha et al. (2018)

Table 2. Parts and extracts of *Jatropha curcas* L. used in control of fungal diseases

Fungi	Pest of	Solvent	Plant organ	References
<i>Alternaria alternata</i>	Cotton, rice, bean, etc.	Petroleum ether; water; methanol	Oil from the seed; leaf; stem (without bark); stem bark; root	Srivastava et al. (2012); Gaikwad et al. (2012); Sachdeva et al. (2011)
<i>Aspergillus flavus</i>	Garlic, rice, cacao, oats	Water; petroleum ether; ethanol; methanol; hexane	Oil from the seed; leaf; stem (without bark); latex; stem bark; root	Makun et al. (2011); Srivastava et al. (2012); Gaikwad et al. (2012); Bassey et al. (2013); El-Nour et al. (2015); Arekemase et al. (2011); Igbinosa et al. (2009)
<i>Aspergillus niger</i>	Lettuce, garlic, beet, soybean	Water; acetone; alcohol; methanol; petroleum ether; ethanol	Oil from the seed; leaf; stem (without bark); stem bark; root skin; root; calli	Ahirwar et al. (2015); El-Nour et al. (2015); Srivastava et al. (2012); Gaikwad et al. (2012); Bassey et al. (2013); Danish et al. (2015); Igbinosa et al. (2009); Sahidin et al. (2011)
<i>Cercospora coffeicola</i>	Coffee	Ethanol	Leaf	ZAIDAN (2018); MUNIZ (2019)
<i>Colletotrichum capsici</i>	Pepper	Ethanol	Oil from the seed	Saetae & Suntornsuk (2010)
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Garlic, cacao, pea, etc.	Ethanol; water	Oil from the seed; leaf	Saetae & Suntornsuk (2010); Ogbebor et al. (2007)
<i>Colletotrichum musae</i>	Banana	Water	Leaf	Thangavelu et al. (2004)
<i>Curvularia lunata</i>	Garlic, rice, potato	Ethanol	Oil from the seed	Saetae & Suntornsuk (2010)
<i>Drechslera heveae</i>	Rubber tree	Water	Leaf	Ogbebor & Adekunle (2008)
<i>Fusarium oxysporium</i>	Tomato, pepper, sugarcane, etc.	Water; alcohol; ethanol; petroleum ether; *Lectin protein	Oil from the seed; leaf; stem (without bark); stem bark, root	Córdova-Albores et al. (2014); Córdova-Albores et al. (2016); Saetae & Suntornsuk (2010); Al-Saman et al. (2015); Siva et al. (2008); Gaikwad et al. (2012); Bassey et al. (2013)
<i>Fusarium semitectum</i>	Soybean	Ethanol	Oil from the seed	Saetae & Suntornsuk (2010)
<i>Fusarium solani</i>	Potato, pea, bean, etc.	Water; ethanol; methanol; acetone: water	Oil from the seed; stem bark	Córdova-Albores et al. (2014); Igbinosa et al. (2009); Sachdeva et al. (2011 ^a);
<i>Fusarium</i> sp	A wide range of crops and vegetables	Water; acetone; alcohol	Oil from the seed; leaf; stem bark; root skin	Ahirwar et al. (2015)
<i>Fusarium verticillioides</i>	Rice, bean, maize	Water	Oil from the seed	Makun et al. (2011)

Hemileia vastatrix	Coffee	Ethanol	Leaf	Z AidAN (2018); MUNIZ (2019)
Lasiodiplodia theobromae	Avocado, pineapple, garlic	Ethanol	Oil from the seed	Saetae & Suntornsuk (2010)
Macrophomina phaseolina	Garlic, rice, potato	Water	Leaf	Savaliya et al. (2015)
Rhizoctonia solani	Lettuce, rice, oat	Water	Leaf; stem (without bark); root	Gaikwad et al. (2012)
Rhizopus sp	A wide range of fruits and vegetables	Water; acetone; alcohol; petroleum ether; methanol	Oil from the seed; leaf; stem bark; root skin	Ahirwar et al. (2015); Sahidin et al. (2011)

CAPÍTULO 2

Potencial biocida de extratos *Jatropha curcas* L. sobre os fungos *Hemileia vastatrix*, *Cercospora coffeicola* e a bactéria *Pseudomonas syringae* causadores de doenças do cafeeiro.

RESUMO

MUNIZ, Dandara Rêgo, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2019. **Potencial biocida de extratos *Jatropha curcas* L. sobre os fungos *Hemileia vastatrix*, *Cercospora coffeicola* e a bactéria *Pseudomonas syringae* causadores de doenças do cafeeiro.** Orientador: Luiz Antônio dos Santos Dias. Coorientadores: João Paulo Viana Leite, Jorge Luis Badel Pacheco e Olinto Liparini Pereira.

O controle de doenças é feito, atualmente, com o uso intensivo e indiscriminado de agrotóxicos. Esta estratégia acarreta a seleção de populações resistentes, tornando o controle cada vez mais difícil, menos eficiente e mais oneroso. Estudos têm revelado o potencial de extratos de plantas no controle alternativo de doenças. *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae), espécie arbustiva, conhecida pelo seu grande potencial na produção de biocombustíveis (biodiesel e bioquerosene), a partir do óleo das sementes, é destaque também na produção de diversas substâncias bioativas, utilizáveis na mitigação do uso de compostos sintéticos. Doenças fúngicas e bacterianas são fatores limitantes para a produção agrônômica. Em Minas Gerais, grandes perdas na produtividade e na qualidade do café são causadas por fitopatógenos. Dessa forma, o presente estudo avaliou a atividade fungicida e bactericida de extratos foliares e caulinares de 12 acessos, pré-selecionados em teste de progênies, sobre os fungos *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola*, causadores de duas das mais importantes doenças do cafeeiro: ferrugem e cercosporiose, respectivamente, e sobre a bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*, causadora da mancha aureolada. Amostras de folhas e caules de *J. curcas* foram submetidas a secagem e moagem e seus extratos clorofórmicos e etanólicos preparados com auxílio do aparato Soxhlet. As atividades fungicidas e bactericidas foram avaliadas, in vitro, a partir da inibição da germinação de esporos de *H. vastatrix*, da redução percentual do crescimento micelial de *C. coffeicola* e da diminuição da zona de crescimento de *P. syringae* pv. *garcae*. Todos os extratos foram capazes de inibir, em 100%, a germinação dos esporos de *H. vastatrix*. Todos os extratos reduziram significativamente o crescimento micelial de *C. coffeicola*, sendo as reduções mais expressivas de 16, 17, 12 e 20%, dos extratos EC04, EF04-clorofórmico e os EC08, EF08-etanólico, respectivamente. Alterações morfológicas também foram observadas nos micélios, indicando a possível variação na produção de melanina, metabólito secundário de importância no desenvolvimento fúngico. Os extratos não agiram sobre *P. syringae* pv. *garcae*. Esses resultados demonstram a importância dos estudos sobre as

propriedades fungicidas dos extratos de *J. curcas*, bem como, na caracterização e identificação de seus componentes bioativos.

Palavras-chave: Biocida; *Jatropha curcas*; *Coffea arabica*; Ferrugem; Cercosporiose; Mancha aureolada

ABSTRACT

MUNIZ, Dandara Rêgo, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2019. **Jatropha curcas potential biocide in coffee diseases.** Adviser: Luiz Antônio dos Santos Dias. Co-advisers: João Paulo Viana Leite, Jorge Luis Badel Pacheco and Olinto Liparini Pereira.

Pest and disease control is currently done with the intensive and indiscriminate use of pesticides. This strategy entails the selection of resistant populations, making control increasingly difficult, less efficient and more costly. Studies have revealed that plant extracts have a potential for alternative disease control. *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae) is a shrub species known for its great potential for the production of biofuels (biodiesel and biokerosene) from the oil of its seeds, and also stands out in the production of various bioactive substances, which can be used in the mitigation of the use of synthetic compounds. Fungal and bacterial diseases are limiting factors for the production of various crops. In Minas Gerais, large losses in productivity and coffee quality are caused by phytopathogens. Thus, the present study evaluated the fungicidal and bactericidal activity of foliar and stem extracts of 12 accessions, pre-selected in a progeny test, on the fungi *Hemileia vastatrix* and *Cercospora coffeicola*, causing two of the most important diseases of coffee: rust and cercosporiosis, respectively, and on the bacterium *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. Leaf and stems samples of *J. curcas* were submitted to drying and milling and their chloroform and ethanolic extracts prepared with the aid of the Soxhlet apparatus. The fungicidal and bactericidal activities were evaluated, *in vitro*, from the inhibition of spore germination of *H. vastatrix*, the percentage reduction of the mycelial growth of *C. coffeicola* and the decrease of the growth zone of *P. syringae* pv. *garcae*. All extracts were able to inhibit the germination of *H. vastatrix* spores in 100%. In agreement, all the extracts significantly reduced the mycelial growth of *C. coffeicola*, being the most expressive reductions of 16%, 17%, 12%, and 20%, for extracts EC04, EF04-chloroform, and EC08, EF08-ethanolic, respectively. Morphological changes were also observed in the mycelia, indicating a possible variation in the production of melanin, a secondary metabolite of importance for the fungal development. The extracts were not able to act on the growth zone of *P. aeruginosa* pv. *garcae*. These results demonstrate the importance of advancing the studies on the fungicidal properties of extracts of *J. curcas*, as well as the characterization and identification of their bioactive components.

Key-words: Biocide; *Jatropha curcas*; *Coffea arabica*; Coffee rust; Leaf spot; Bacterial blight of coffee.

1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são produtos químicos ou biológicos utilizados na agricultura com o objetivo de minimizar danos causados por organismos considerados danosos a determinadas culturas. São produtos amplamente empregados em todo o mundo, onde auxiliam no aumento da produtividade, sendo fundamentais na produção de alimentos. Porém, muitos dos princípios ativos, atualmente utilizados, causam efeitos maléficos à saúde humana e ao ambiente. Pesticidas das classes dos organofosforados e organoclorados, por exemplo, interferem em funções cognitivas e psicomotoras, e desenvolvimento cerebral (CABRERA, 2017). A preocupação ambiental consiste no fato de que a maioria desses compostos é persistente em corpos d'água, solos e, inclusive, na atmosfera (DÉSERT et al., 2018; MATTEI et al., 2018). Somado a esses problemas, há vários registros de resistência a esses pesticidas (HAWKINS et al., 2018).

Enquanto isso, a atenção aos pesticidas naturais (biocidas) aumentou nas últimas décadas. Devido às suas características agrônômicas, toxicológicas e ecotoxicológicas, os extratos vegetais ganharam importância por causarem danos mínimos ao ambiente e a saúde humana e animal, sendo vistos atualmente como componente efetivo e de valor nos sistemas de manejo integrado. No Brasil, a produção comercial de biocidas cresce anualmente, e de 2015 a 2016 o aumento foi quase 100%, gerando emprego, renda, e impulsionando este segmento estratégico agregando valor aos produtos do agronegócio (MENTEN, 2017). No atual cenário brasileiro, com o crescimento da agricultura orgânica, aliado às exigências de alimentos isentos de agrotóxicos por parte do mercado consumidor, é cada vez mais necessário o avanço e desenvolvimento de produtos biológicos objetivando o controle de doenças agrícolas (VASCONCELOS, 2018).

As plantas produzem uma gama de substâncias químicas, nos diversos tecidos, que são usadas na autoproteção contra estresses abióticos e bióticos, assim como, na comunicação com outras plantas e organismos (MIRESMAILLI & ISMAN, 2014). Tais substâncias, conhecidas como metabólitos secundários, despertam interesse, cada vez maior, devido ao potencial na fabricação de medicamentos, conservantes, fragrâncias e aos recentes promissores usos na agricultura.

Nesse contexto, a jatropha (*Jatropha curcas* L.) surge como planta-chave. Pertencente à família Euphorbiaceae, *J. curcas* é destaque pelo seu caráter multiuso. Convencionalmente, o óleo extraído dos grãos (média de 1.500 L ha⁻¹) está sendo utilizado na produção de biodiesel. Contudo, além desse uso, os extratos obtidos da planta têm ação biocida, podendo atuar como moluscicida (QUIJANO et al., 2014), inseticida (SANGAVI & EDWARD, 2017) e fungicida (TERNA & SIMON, 2017). Essa ação biocida da jatropha é devida ao elevado conteúdo em metabólitos secundários, particularmente o éster de forbol. Desse modo, a espécie atende tanto a demanda agroenergética, quanto a fitossanitária no controle de doenças.

O cenário da agricultura no Brasil é destaque no mundo todo, sendo a cultura do cafeeiro importante fonte de riquezas que possibilita o desenvolvimento socioeconômico de várias regiões. O país é o maior produtor e o segundo maior consumidor de café do mundo. Segundo o relatório de Outubro de 2018 da ICO, o ano-safra de 2016/2017 terminou com a produção total de café de cerca de 159 milhões de sacas, o que equivale ao aumento de 0,2% em relação à produção do ano-safra anterior (**Tabela 1**). Em relação ao consumo mundial, segundo o mesmo relatório, houve aumento de 1,6% em 2018, em relação a 2017 (**Tabela 2**).

Tabela 1. Produção mundial de café por continentes/países, safra 2017/2018

Continente/ País	Produção (milhões de sacas de 60 kg)	Continente/ País	Produção (milhões de sacas de 60 kg)
Mundo	159.375		
África		América do Norte e Central	
Etiópia	7.650	Honduras	7.700
Uganda	4.800	México	4.000
Costa do Marfim	1.300	Guatemala	3.700
Quênia	790	Nicarágua	2.500
Tanzânia	783	Costa Rica	1.560
Madagascar	407	Ásia e Oceania	
América do Sul		Vietnam	29.500
Brasil	52.735	Indonésia	10.902
Colômbia	14.000	Índia	5.840
Peru	4.280	Papua Nova Guiné	734
		Tailândia	500

Fonte: (ICO, 2018).

Em 2019 a estimativa da produção brasileira é 61,7 milhões de sacas, devendo gerar receita de 19 bilhões de reais (CONAB, 2018). O estado de Minas Gerais ocupa o primeiro lugar no ranking, sendo responsável por 69% dessa produção (CONAB, 2018). Porém, como observado pelo tímido aumento entre as safras, a incidência de doenças aumenta a desfolha dos pés, e conseqüentemente, gera queda de produtividade. No campo das doenças fúngicas, a ferrugem e a cercosporiose são duas das mais importantes, responsáveis por perdas de produção que podem chegar a 50% e 30%,

respectivamente. Juntas, essas doenças podem acarretar, anualmente, perdas potenciais de 16 bilhões de reais.

Tabela 1. Consumo mundial de café nos países produtores e importadores, no ano-safra 2018

País	2 Consumo (milhões de sacas de 60 kg)	3 País	4 Consumo (milhões de sacas de 60 kg)
Mundo	156.133		
Produtores		Importadores	
Brasil	21.225	União Europeia	42.567
Indonésia	4.600	EUA	25.775
Etiópia	3.725	Japão	7.913
Filipinas	3.000	Rússia	4.638
Vietnam	2.400	Canadá	3.783
México	2.360	Coréia do Sul	2.316
Índia	2.300	Argélia	2.223
Colômbia	1.736	Austrália	1.847
Venezuela	1.650	Arábia Saudita	1.430

Fonte: (ICO, 2018).

A cercoporiose, causada pelo fungo *Cercospora coffeicola* (Berk & Cook), também conhecida como olho pardo, mancha circular, mancha parda ou olho de pombo, é uma doença bastante antiga nos cafezais das Américas. No Brasil, há registros desde 1887 (GODOY et al., 2016). A doença está presente de forma endêmica em quase todas as lavouras cafeeiras do País. Os sintomas característicos que conferiram as denominações dessa doença são manchas foliares circulares de coloração castanho-claro a escuro, com o centro branco acinzentado, quase sempre envolvido por um halo amarelo (**Figura 1A**). Nas partes expostas ao sol, aparecem manchas marrons ou arroxeadas, deprimidas, que se tornam escuras quando mais velhas. As lesões funcionam como porta de entrada de outros fungos, denominados oportunistas, que podem depreciar a qualidade do café produzido (GODOY et al., 2016).

A segunda doença importante é a ferrugem do cafeeiro, causada pelo fungo *Hemileia vastatrix* Berk. & Br.. Detectada em território brasileiro em 1970, no sul da Bahia, porém, em pouco tempo, foi disseminada em todo o país (ZAMBOLIM et al., 1997). O sintoma mais característico da doença é a abscisão foliar, retardando o desenvolvimento e definhando a planta, reduzindo a produção (ZAMBOLIM et al., 2002). Os primeiros sintomas da doença são manchas cloróticas com diâmetro de 1 a 3 mm. Posteriormente, essas lesões, na face abaxial da folha são cobertas de uredósporos, formando pústulas de coloração alaranjada e dimensão variável, atingindo mais de 1 cm, dependendo do grau de infecção (**Figura 1B**). Na face adaxial, nas áreas correspondentes à massa de uredósporos da face inferior, encontram-se manchas cloróticas (GODOY et al., 2016).

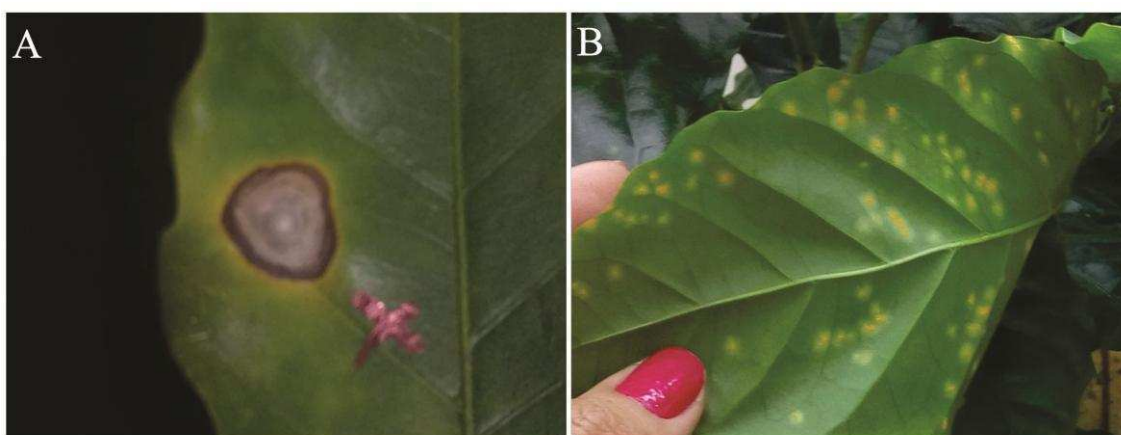


Figura 1. Doenças fúngicas do cafeeiro. A - Cercosporiose; B - Ferrugem.

Atualmente, o manejo é feito, principalmente, com o uso da mistura de triazóis e o grupo químico estrobilurinas, com o intuito de aumentar a eficácia dos produtos que já apresentam redução da sensibilidade e preservar os princípios utilizados. Porém, o uso concomitante dos dois compostos onera o manejo do cafezal.

Dentre as doenças bacterianas, a mancha aureolada - uma das principais do cafeeiro e sobre a qual poucas pesquisas foram realizadas - é causada pela bactéria *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. Foi detectada pela primeira vez no fim de 1955 no estado de São Paulo (AMARAL et al., 1956), em seguida sua ocorrência foi relatada em Minas Gerais e Paraná (KIMURA et al., 1976). O agente etiológico é uma bactéria Gram negativa, aeróbia estrita, com célula em formato de bastonete (GODOY et al., 2016). Penetra na planta através de aberturas naturais e/ou ferimentos causando pequenas lesões irregulares nas folhas, inicialmente com aparência de intumescência, de

coloração marrom-escuro, que aumentam de tamanho e, em seguida, desenvolvem halos amarelos ao redor das lesões – a mancha aureolada (GODOY et al., 2016).

O manejo de fitobacterioses, em geral, exige técnicas economicamente inviáveis, e há grande dificuldade em recuperar plantas infectadas por fitobactérias. Da mesma forma, a falta de informações acerca da dinâmica ou progresso da mancha aureolada torna complexo o controle (RODRIGUES et al., 2013). Adicionalmente, a resistência das bactérias patogênicas está cada vez mais grave, devido às dificuldades em descobrir e lançar novos antimicrobianos no mercado. Assim, esse problema tem contribuído para estudos de novos compostos sintéticos e/ou naturais originados de plantas (PUPO & GALLO, 2007).

Sendo assim, considerando a sustentabilidade da produção cafeeira e o aumento da resistência da planta aos fungicidas e bactericidas atuais, esse trabalho contribui para a elucidação de novos extratos de *Jatropha curcas* L., abrindo possibilidades na proteção do café frente às doenças: cercosporiose, ferrugem e mancha aureolada, em consonância com o aumento da produtividade e menor impacto ambiental.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Coleta do material vegetal

Folhas maduras e cascas de caule oriundos de 12 famílias pré-selecionadas de *J. curcas*, foram coletados na Fazenda Experimental (latitude 20° 40' 00.8" S, longitude 42° 31' 05.1" O e altitude 985 m) da Universidade Federal de Viçosa, em Araponga, MG. As famílias do Teste de Progênie instalado em 2008 haviam sido pré-selecionadas, dentre 121 outras, pela sua maior produtividade de óleo (CARDOSO, 2014; CARDOSO et al., 2018).

Os materiais vegetais, armazenados em saco de papel craft, foram conduzidos ao Laboratório de Oleaginosas, do Departamento de Fitotecnia (DFT) da UFV, onde foram pesados e secos em estufas de circulação forçada de ar (50 °C) até peso constante.

5.2 Preparação dos extratos

O material seco foi triturado em moinho de facas até a obtenção de um pó fino, e os extratos foram preparados pelo método de extração Soxhlet, durante 4h para cada solvente. Para 40g de pó (20g para as amostras foliares) foram adicionadas inicialmente 250 mL de clorofórmio (CHCl₃) e levado a extração. Posteriormente, após retirada do

extrato clorofórmico, adicionou-se etanol (ETOH) ao Soxhlet, iniciando novo ciclo de extração. Os solventes foram eliminados utilizando-se rotavapor a 55 °C para CHCl₃ e a 60 °C para ETOH, e em seguida liofilizados para completa eliminação dos solventes. O rendimento (R) foi calculado de acordo com a massas seca (MSE) e fresca (MFE) dos extratos:

$$R(\%) = \frac{MSE}{MFE} \times 100$$

Todo material utilizado durante a preparação dos extratos foi anteriormente autoclavado visando minimizar as contaminações.

Foi feita a seguinte codificação dos extratos (**Tabela 3**):

Tabela 3. Codificação dos extratos

Código		Família	Árvore
Caule	Folha		
EC01	EF01	122	2
EC02	EF02	13	4
EC03	EF03	14	2
EC04	EF04	147	2
EC05	EF05	3	3
EC06	EF06	33	2
EC07	EF07	35	3
EC08	EF08	57	1
EC09	EF09	66	2
EC10	EF10	77	1
EC11	EF11	77	2
EC12	EF12	77	3

Na sequência, foram pesados 50 mg de cada extrato em microtubos, diluídos em 1 mL de DMSO 2%. Como controle negativo foi utilizado DMSO 2%, sem acréscimo de material vegetal. Os extratos foram colocados em banho-maria (40 °C) durante 30 minutos, seguido da homogeneização em vórtex até dissolução completa.

5.3 Ensaio com *Cercospora coffeicola*

Folhas de café (*Coffea arabica*), contaminadas naturalmente com o fungo, foram coletadas em uma propriedade privada (Porto Firme – MG), e levadas ao Laboratório de Micologia, Departamento de Fitopatologia (DFP) da UFV, objetivando o isolamento direto. Com auxílio de uma lupa, os conídios foram retirados da face abaxial da folha e transferidos até a placa de Petri contendo meio ágar-ágar. Após 48h, e verificação da ausência de contaminantes, a estrutura fúngica foi transferida ao meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), e mantida em BOD a 25 °C, até o início do ensaio.

No período do teste foi realizada a subcultura (repique) dos fungos em novo meio até alcançarem o período ideal, ou seja, obter estruturas jovens e em fase de crescimento. Visando a avaliação da atividade antifúngica 15 mL de BDA, recém-preparado e autoclavado, foi vertido em placa de Petri (60x10mm), seguida da adição de 1 mL de um dos extratos. Após a solidificação do meio, um disco da cultura fúngica foi adicionado ao centro de cada placa, com auxílio de um canudo plástico. As placas foram revestidas em filme de PVC e mantidas em BOD a 25 °C durante 15 dias, período que o micélio do controle levou para tocar a borda da placa de petri. Foram realizadas duas leituras, e utilizada a média delas, do crescimento micelial, com auxílio de paquímetro digital.

A fungitoxicidade dos extratos clorofórmicos e etanólicos foi determinada em termos de percentagem de inibição do crescimento da colônia e calculada por meio da fórmula:

$$PI (\%) = \frac{D_C - D_T}{D_C} \times 100$$

Onde:

PI (%) = Porcentagem de inibição do crescimento (%);

D_C = Diâmetro médio de *Cercospora coffeicola* no controle;

D_T = Diâmetro médio de *Cercospora coffeicola* nos tratamentos testados.

Com os micélios que apresentavam coloração mais escura foram preparadas lâminas visando verificar a formação de clamidósporos (estruturas de resistência).

Com o objetivo de determinar se os extratos testados apresentavam atividade fungicida ou fungistática, ao final do experimento, os discos dos micélios com maior inibição foram transferidos a placas com BDA sem a presença dos extratos.

5.4 Ensaio com *Hemileia vastatrix*

Tendo em vista a inoculação, uredinósporos de *Hemileia vastatrix* acondicionados em microtubos de 2 mL foram gentilmente cedidos pelo Departamento de Fitopatologia (DFP). Foi preparada a suspensão de esporos na concentração de 1×10^6 uredinósporos mL^{-1} de água contendo Tween 20. Antes de cada inoculação, a viabilidade do inóculo foi testada, com base na porcentagem de esporos viáveis. Mudanças de café (*Coffea arabica*), variedade caturra, foram pulverizadas até o ponto de escorrimento, e mantidas em câmara úmida, na ausência de luz a 20 °C pelo período de 48 h, e em seguida transferidas para a câmara de crescimento a 22 °C. A coleta dos uredinósporos usadas nos ensaios foi feita a partir do 30º dia de inoculação.

Esporos recém-coletados foram diluídos em 1 mL de água + Tween 20. A quantificação foi realizada com auxílio de uma câmara de Neubauer, pela contagem dos esporos contidos em “c” (**Figura 2**) e multiplicando a média por 2,5 (constante pré-estabelecida) obtendo-se o valor da concentração em 10^5 . Em seguida foi feita a diluição objetivando atingir a concentração teste de 1×10^6 . Alíquotas de 15 μL da suspensão foram misturadas com 15 μL do extrato e colocadas em lâminas de microscopia. Em seguida as lâminas foram armazenadas em gerbox, forradas com papel toalha umedecido com água – câmara fria, embrulhadas em papel alumínio (simulando ambiente escuro) e mantidas em BOD a 22 °C durante 6h. Após esse período, a germinação foi interrompida com lactofenol recoberto por lamínulas, e a porcentagem de germinação foi avaliada e fotografada por meio da observação em microscópio ótico (aumento de 30 e 40x) acoplado a máquina fotográfica. Foram considerados como germinados os uredinósporos com tubo germinativo de dimensão igual ou superior ao comprimento dos uredinósporos não germinados.

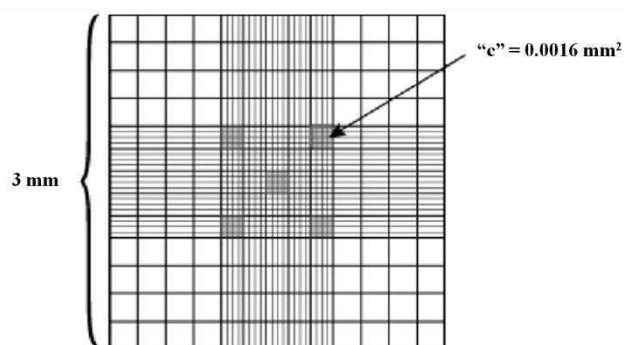


Figura 2. Localização de contagem dos esporos na câmara de Neubauer (PREDAS-ROJAS et al., 2018).

5.5 Ensaio com *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*

As bactérias *P. syringae* foram obtidas da Bacterioteca do DFP. As cepas estavam armazenadas em geladeira a 4 °C a fim de inibir a proliferação. Na reativação foram repicadas em placas de Petri (90 x 15 mm) contendo meio MB1 (Meio Básico 1), e incubadas em BOD por 48 h a 25 °C. No preparo do inóculo foi feita a suspensão direta de colônias em MgCl₂ 10 mM estéril, seguida de leitura espectrofotométrica a 600 nm até obtenção de absorbância entre 0,08 a 0,10 (1,0 x 10⁸ UFC mL⁻¹).

Foram utilizadas placas de Petri (150 x 15 mm) contendo duas camadas de meio. A primeira consistiu na distribuição de 20 mL de meio ágar-ágar e, logo após solidificação, foram adicionados 40 mL de meio MB1 (a 50 °C) misturado a 400 µL de suspensão bacteriana. As placas foram envoltas em filme de PVC, e o sistema foi mantido em geladeira (4 °C) durante 15 h com o objetivo de facilitar a difusão e, conseqüentemente, aumentar o diâmetro de inibição melhorando o limite de detecção.

A atividade antibacteriana dos extratos vegetais foi constatada pelo método de difusão em disco. Pipetou-se 15 µL dos extratos em discos, feitos a partir de papel filtro, autoclavados. O controle positivo foi realizado com discos de estreptomicina. As placas foram incubadas em BOD a 28 °C e analisadas após 24 e 48 h. Após a incubação, foi feita a medida do halo de inibição formado em torno dos discos com auxílio do paquímetro digital.

5.6 Análises estatísticas

Em todos os ensaios foram adotados delineamentos inteiramente casualizados, com seis repetições de laboratório. As repetições de campo foram desconsideradas, face

ao grande volume de folhas e caule necessário na obtenção dos extratos, exigindo a junção dessas repetições.

2.6.1 Análises estatísticas univariadas

As análises do ensaio antifúngico com *Cercospora coffeicola* foram processadas em esquema fatorial na parcela sub-sub-dividida com três tratamentos (12 extratos, Controle e DMSO 2%), obtidos de dois órgãos (caule e folha), a partir de dois solventes (clorofórmio e etanol), testados durante 13 dias. Aos dados do ensaio de *Cercospora coffeicola* foi aplicada a análise de variância (DIAS & BARROS, 2009) e teste de identidade de modelos, contrastando extratos, controle e DMSO 2%, entre si, para verificar a diferença entre as retas de regressão, visto ter havido crescimento do fungo ao longo do tempo. Foram testados cinco modelos lineares e linearizados para explicar a relação da medição (y) com tempo (x, em dias): linear, quadrático, Henriksen, Stoffels e Curtis. Elegeu-se o melhor modelo como sendo aquele de maior valor de correlação (r), maior coeficiente de determinação (R^2), menor desvio-padrão residual (S_e) e com sentido biológico.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Rendimento dos extratos

A obtenção dos extratos foi realizada através de Soxhlet, que consiste no tratamento sucessivo e intermitente da amostra imersa em solvente grau P.A. (no caso clorofórmio e também etanol) (BRUM et al., 2009). O rendimento está descrito na Tabela 4. No extrato obtido a partir da folha com esses dois solventes (clorofórmio e etanol) o aumento foi de 5.7 e 4.7 vezes, respectivamente, quando comparado com o caule. Em concordância, para ambos os órgãos, o solvente lipofílico (CHCl_3) mostrou rendimento superior (Tabela 4). As diferenças observadas entre os solventes e os órgãos utilizados podem ser causadas pelo tipo de substância arrastada devido a diferença de polaridade (SIMÕES et al., 2007), bem como pelo fato de os solventes serem colocados em sequência sobre a mesma amostra da planta seca (clorofórmio, seguido do etanol).

Muitas toneladas de plantas são necessárias na extração de alguns gramas de metabólitos secundários, que em pequenas quantidades dificultam a realização de pesquisas que buscam elucidar suas funções. Sendo assim, novas técnicas de extração

que proporcionam maior rendimento final têm sido relatadas (AZWANIDA, 2015), com a finalidade de maximizar a exploração das moléculas vegetais.

Tabela 4. Rendimento dos extratos de folhas e de caule referentes aos 12 acessos de *Jatropha curcas* L.

Extrato	Caule (g kg ⁻¹)		Folha (g kg ⁻¹)	
	CHCl ₃	ETOH	CHCl ₃	ETOH
E01	1.01	0.71	6.40	3.54
E02	0.97	0.35	1.56	1.15
E03	0.13	1.02	2.62	1.35
E04	0.88	0.86	4.33	3.07
E05	1.04	0.87	1.74	1.86
E06	0.82	0.47	7.55	5.96
E07	0.88	0.79	6.85	5.71
E08	0.71	0.66	3.66	0.48
E09	0.63	0.40	4.43	0.82
E10	1.12	0.64	6.80	4.68
E11	1.39	0.70	7.03	4.75
E12	1.38	0.49	8.35	4.89
Média	0.91 (0.09%)	0.66 (0.07%)	5.11 (0.51%)	3.19 (0.32%)

6.2 Ensaio antifúngico com *Cercospora coffeicola*

A análise de variância (**Tabela 5**) revelou diferenças altamente significativas entre tratamentos (Controle, DMSO 2% e Extratos), solventes (CHCl₃ e ETOH) e dias (1, 2, ...,13). Porém não houve diferenças entre órgãos (Folhas e Cascas de caule) e a interação entre tratamentos e órgãos foi não significativa. Pode-se concluir então que os extratos tiveram ação efetiva contra o patógeno, não importando se obtidos de folhas ou cascas. Pode-se concluir, ainda, que o extrato etanólico foi mais ativo que o clorofórmico e que o efeito inibidor dos tratamentos (extratos) variou com os dias. No caso da diferença entre solventes, esta ocorre devido à natureza dos compostos extraídos por cada um deles (MARTINS et al., 2013).

Tabela 5. Análise de variância em esquema fatorial na parcela sub-sub-dividida para percentagem de inibição do crescimento da colônia, relativa aos fatores Tratamento (Controle, DMSO 2% e Extratos), Órgão (Folhas e Cascas de Caule) e Solvente (CHCl₃ e ETOH) e Dia (1, 2, ...,13)

FV	GL	SQ	QM	F	p-value	
Trat	2	4320	2159.8	79.38	1.20E-07	***
Órgão	1	19	19.5	0.71	0.4140	
Trat × Órgão	2	3	1.6	0.06	0.9420	
Erro a	12	326	27.2			
Solvente	1	2527.4	2527.4	890.33	1.26E-12	***
Trat/Solvente	2	421.2	210.6	74.19	1.75E-07	***
Órgão/Solvente	1	387	387	136.31	6.56E-08	***
(Trat × Órgão)/Solvente	2	64.5	32.2	11.36	0.0017	**
Erro b	12	34.1	2.8			
Dia	12	408573	34048	5503.17	< 2E-16	***
Solvente/Dia	12	260	22	3.50	3.77E-05	***
Trat/Dia	24	860	36	5.79	< 2E-16	***
Órgão/Dia	12	155	13	2.09	0.0147	*
Trat/Solvente/Dia	24	43	2	0.29	0.9997	
Órgão/Solvente/Dia	12	131	11	1.76	0.0495	*
Trat × Órgão/Dia	24	26	1	0.17	1.0000	
Trat × Órgão/Solvente/Dia	24	22	1	0.14	1.0000	
Erro c	2004	12399	6			

*; **, *** Significativo a 5%, 1% e 0,1%, respectivamente.

Na maioria dos extratos foram obtidos valores de crescimento micelial menores do controle e do DMSO 2% (**Figura 3a**). O teste de identidade de modelos por contrastes entre os tratamentos também acusou diferenças significativas entre as curvas de tratamentos, controle e DMSO 2%, reforçando a efetividade da ação dos extratos obtidos das 12 famílias de *J. curcas* (**Figura 3b**). O modelo linearizado de Stoffels foi escolhido, dentre os cinco avaliados, por apresentar o maior valor de correlação (r), maior coeficiente de determinação (R^2), menor desvio-padrão residual (S_e) e sentido biológico (Tabela 6). Cabe ressaltar que não foi aplicado teste comparativo de médias porque as repetições de campo foram combinadas. Por outro lado, pela avaliação visual (**Figura 3a**) alguns extratos foram mais efetivos no controle do fungo. Assim, os extratos EC04-clorofórmico e EF04-clorofórmico, bem como os extratos EC08-etanólico e EF08-etanólico foram os mais eficientes, proporcionando redução micelial de 16%, 17%, 12% e 20%, respectivamente (**Figura 4**). É importante destacar o mesmo comportamento das famílias 04 e 08, nos seus distintos órgãos sob o mesmo extrator.

DMSO 2% não interferiu no teste, visto que comparado com a H₂O (Controle) não prejudicou, de forma significativa, o crescimento micelial na ausência de extrato.

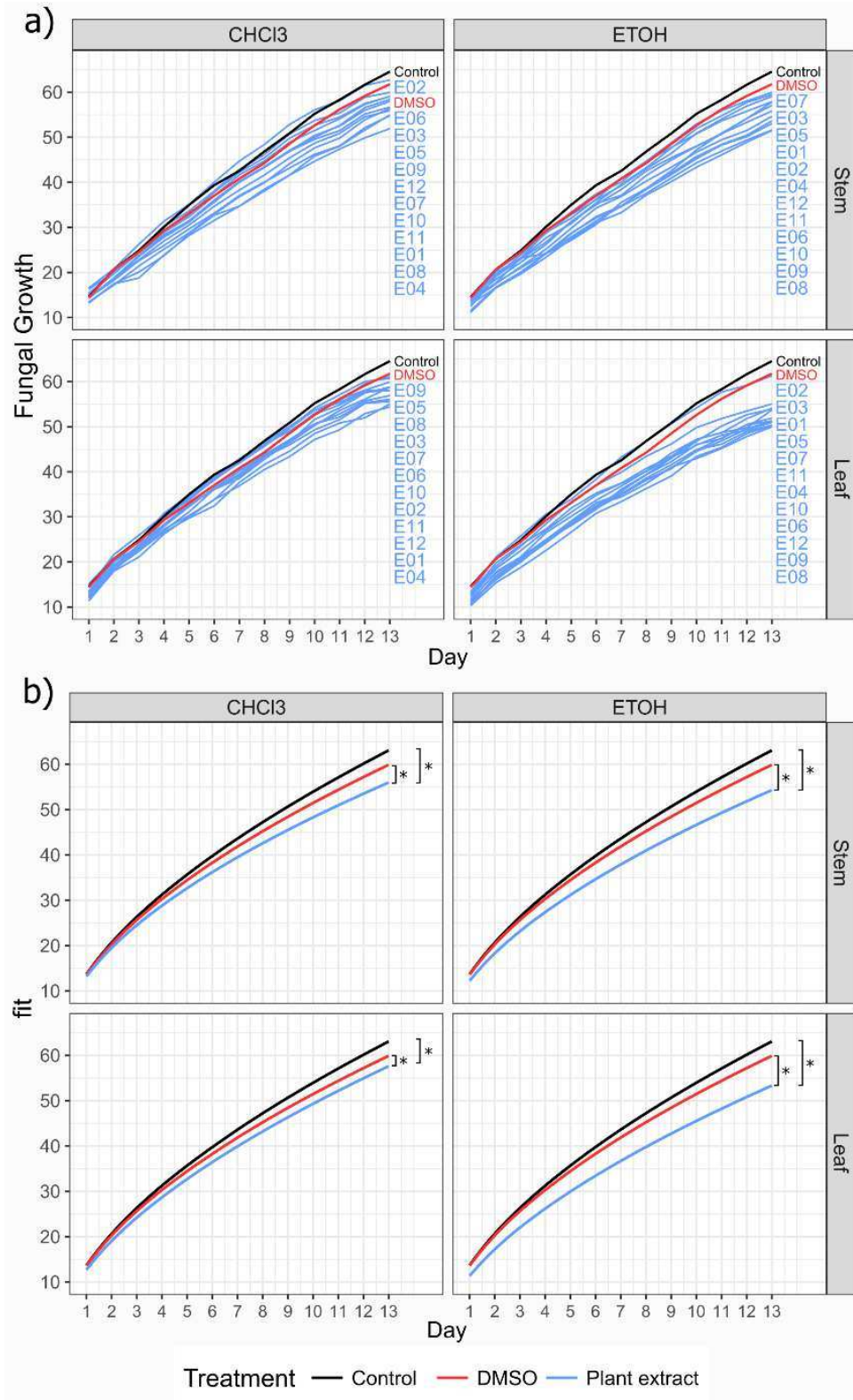


Figura 3. Crescimento do fungo *Cercospora coffeicola* ao longo do tempo (dias). a) Médias de cada controle e extratos; b) Teste de identidade de modelo, por contraste

entre os tratamentos (extratos, controle e DMSO 2%), para verificar as significâncias entre as curvas.

Tabela 6: Teste de identidade de modelos lineares e linearizados para explicar a relação medição (y, em unidade) versus tempo (x, em dias) relativo a ação de extratos obtidos. Em negrito o modelo escolhido

Modelo	Equação	r	R ²	S _e (%)
Linear	$y = \beta_0 + \beta_1 x + e$	0.970	0.941	9.079
Quadrático	$y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_2 x^2 + e$	0.974	0.949	8.452
Henriksen	$y = \beta_0 + \beta_1 \ln(x) + e$	0.943	0.889	12.452
Stoffels	$\ln(y) = \beta_0 + \beta_1 \ln(x) + e$	0.973	0.947	8.704
Curtis	$\ln(y) = \beta_0 + \beta_1 \frac{1}{x} + e$	0.883	0.780	18.961

r: Correlação; R²: coeficiente de determinação; S_e: Desvio-padrão residual.

Na bibliografia consultada, resultados semelhantes foram observados com o uso dos mesmos solventes, porém com material vegetal advindo de famílias diferentes pertencentes ao mesmo teste de progênie, onde a inibição micelial foi de 16% e 8% para etanol e clorofórmio, respectivamente (ZAIDAN, 2018). Reduções de até 64% foram observadas sobre o mesmo fungo quando extratos aquosos, de específicas partes, de *Allium sativum*, *Vernonia polysphaera* e *Syzygium aromaticum* foram aplicados (SILVA et al., 2014). Em campo, extratos aquosos de *J. curcas* diminuíram a severidade de *Cercospora sesami* em 12%, o que permitiu um aumento de 7% na produtividade das plantas de gergelim (NAHUNNARO & TUNWARI, 2012). De forma semelhante, extratos etanólicos de própolis diminuíram entre 30% (PEREIRA et al., 2008) e 41% (ANDROCIOLI et al., 2012) a incidência de cercosporiose em mudas de cafeeiro, enquanto que para o óleo da semente de nim esse valor foi de, aproximadamente, 19% (ANDROCIOLI et al., 2012).

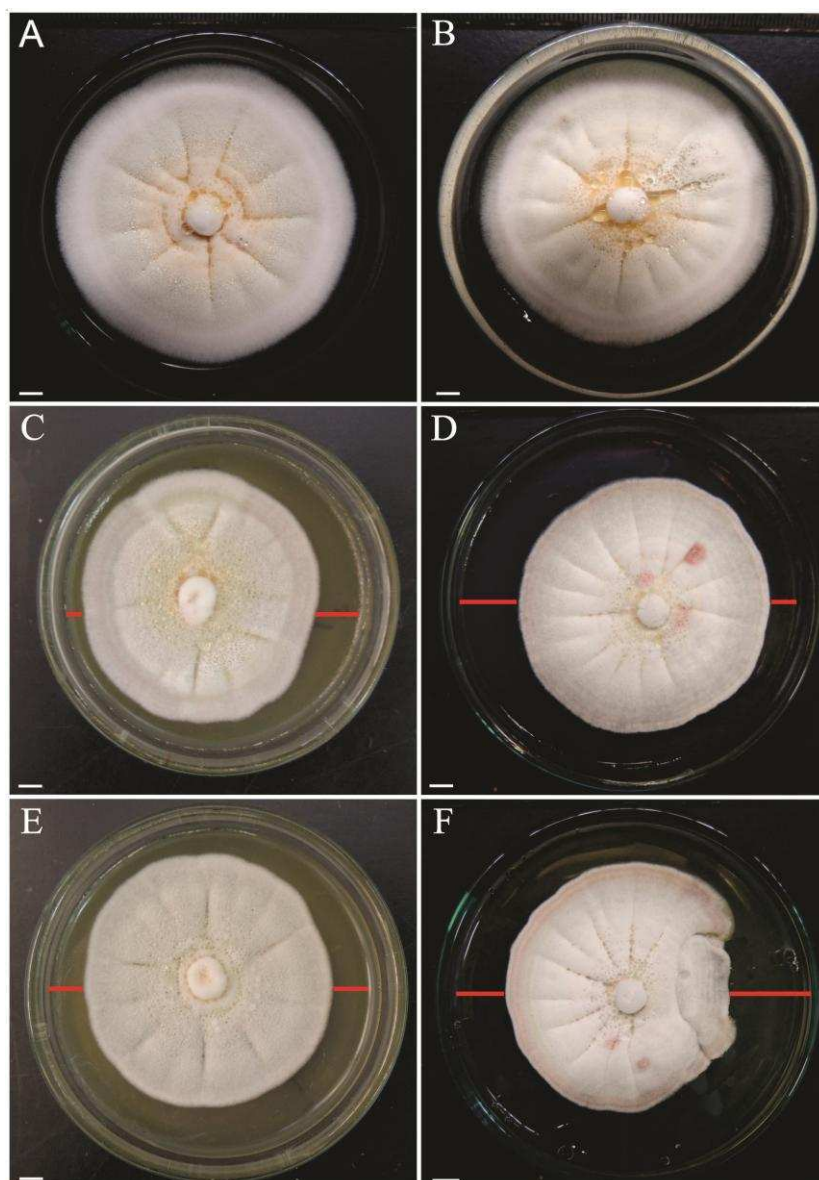


Figura 4. Inibição micelial de *Cercospora coffeicola* causada pelos extratos de *Jatropha curcas* L.. A – H₂O; B – DMSO 2%; C – EC04-clorofórmico; D – EC04-etanólico; E – EF08-clorofórmico; F – EF08-etanólico. (Escala = 0,5cm).

Estudos mostram ação semelhante do extrato etanólico, de folha e caule, de *J. curcas* sobre outros fungos fitopagênicos, como *Aspergillus niger* (AHIRWAR et al., 2015). Extratos, em concentrações maiores que a testadas nesse trabalho, feitos a partir da semente, órgão com alta concentração de forbol ester, foram capazes de inibir em 100% o crescimento micelial de diferentes fungos (DONALPORN & SUNTORNSUK, 2010). Em contraste, o crescimento micelial dos fungos *Didymella bryoniae*, *Pyricularia grisea* e *Rhizoctonia solani* não foi afetado pela aplicação de extratos feitos a partir do óleo essencial das folhas de *J. curcas* (SARMENTO-BRUM et al., 2014).

Além de atuar na redução do crescimento micelial, alguns extratos causaram modificação na coloração dessa estrutura (**Figura 5**), o que pode indicar uma alteração na produção de melanina desses fitopatógenos. As melaninas são pigmentos multifuncionais, de coloração marrom-escuro ou preta, que em fungos patogênicos desempenham importante função processo de infecção, pois aumentam a capacidade de virulência destes organismos (REVANKAR & SUTTON, 2010), e ainda pode protegê-lo contra a ação de agentes antifúngicos (VAN DE SANDE et al., 2007), uma vez que a melanização pode afetar a rigidez da parede celular (HORBACH et al., 2013). Alguns estudos sugerem que a melanina induz as interligações entre polissacarídeos e/ou promove impedimentos estéricos acumulando-se nos espaços existentes nessa rede da parede celular (JACOBSON, 2000).

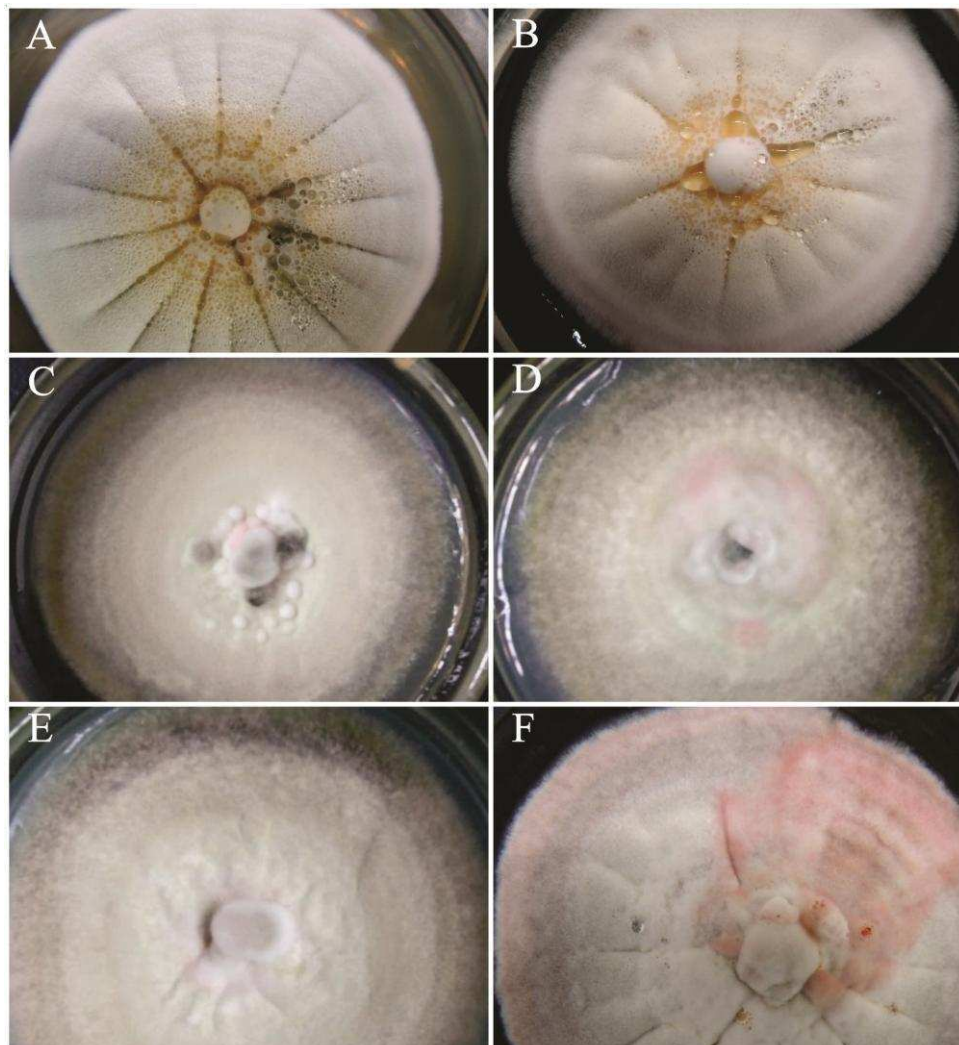


Figura 5. Alteração na coloração micelial de *Cercospora coffeicola*. A - H₂O; B -

DMSO 2%; C - EC02-etanólico; D - EF03-clorofórmico; E - EF05-etanólico; F - EF10-etanólico.

Não houve formação de clamidósporos nos micélios de coloração mais escura (**Figura 6**). Tais estruturas, compostas de parede grossa e reserva nutricional, conferem rusticidade e maior competitividade e sobrevivência ao fungo, principalmente em condições de estresse (HALLMANN et al., 2009; PEREIRA et al., 2012b).

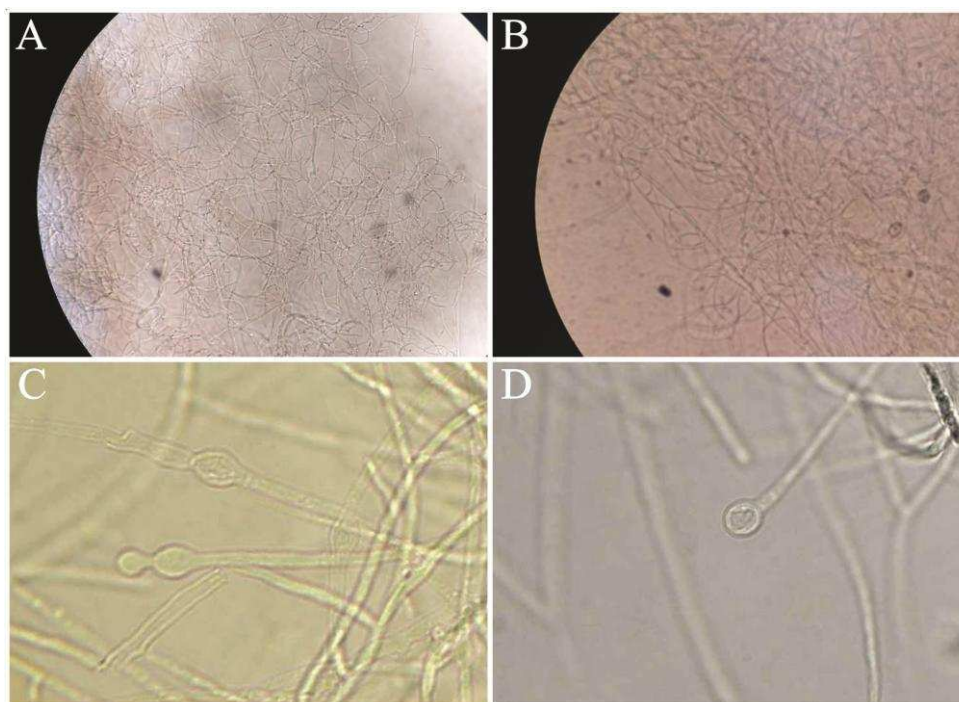


Figura 6. Lâminas mostrando a ausência de clamidósporos no micélio de *Cercospora coffeicola*. A - EC02-etanólico; B - EF03-clorofórmico; C e D - Exemplos de hifas com clamidósporos (TOMÉ & MARQUES - Atlas de Micologia).

Os extratos – E01 e E04 clorofórmicos e E08 e E09 etanólicos – provocaram atividade fungistática (**Figura 7**). Esta atividade é comum em extratos vegetais brutos e tem sido relatada (QUIROGA et al., 2001). Os compostos fungistáticos inibem a síntese proteica. Possivelmente a inibição ocorre através de uma ligação fraca (não-covalente) do composto aos ribossomos, e com a diminuição da concentração as ligações são quebradas, permitindo a retomada da síntese proteica (MADIGAN et al., 2016). Tal fato pode ter provocado o aumento do crescimento micelial, quando o fungo *Cercospora coffeicola* foi colocado em novo meio de cultura, sem a presença dos extratos testados.

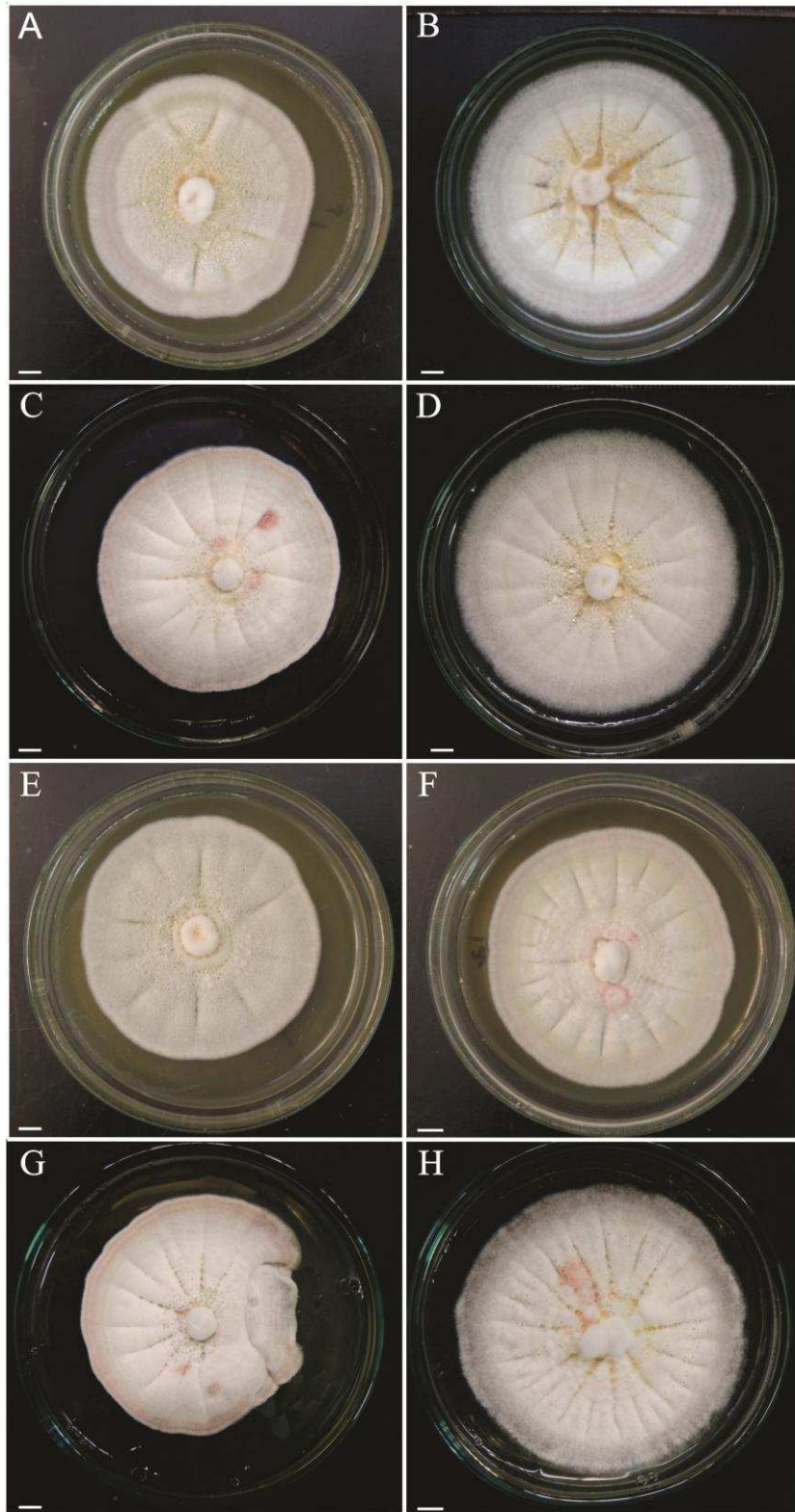


Figura 7. Atividade fungistática dos extratos de *Jatropha curcas* L.. A - EC04-clorofórmico; C - EC04-etanólico; E - EF08-clorofórmico; G - EF08-etanólico; B, D, F e H - Restabelecimento do crescimento micelial em meio sem a presença do extrato.

6.3 Ensaio antifúngico com *Hemileia vastatrix*

Todos os extratos inibiram em 100% a germinação dos urediniósporos de *Hemileia vastatrix* (**Figura 8**), mostrando a potencialidade das substâncias ativas presentes nas famílias de *J. curcas* do teste de progênie da UFV, confirmada por trabalho anterior (ZAIDAN, 2018) com diferentes famílias do mesmo teste. A completa inibição da germinação dos urediniósporos de *H. vastatrix* é um resultado de grande importância, uma vez que a germinação dos esporos é a fase mais crítica durante o processo de infecção desse fungo no cafeeiro, pois a partir desse momento o patógeno inicia o seu desenvolvimento.

Em outros estudos foi observada inibição parcial da germinação com a utilização do óleo essencial e extrato foliar de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish (SALUSTIANO et al., 2006), *Piper aduncum* L. (ALVARADO-CASTILLO et al., 2017), *Cymbopogon nardus* (L.), *Syzygium aromaticum* e *Thymus vulgaris* (PEREIRA et al., 2012b) e bulbos de *Allium sativum* (SILVA et al., 2014), porém com menor eficiência, e tendo utilizado concentrações superiores às do presente trabalho. Por outro lado, o óleo essencial de *Baccharis trimera* (Less.) DC., mesmo em maiores concentrações, não inibiu a germinação de *H. vastatrix* (MOURA et al., 2014). Já o extrato floral de *J. curcas* proporcionou inibição de 65% na germinação de esporos de *Phakopsora pachyrhizi* – agente etiológico da ferrugem da soja (BORGES et al., 2013).

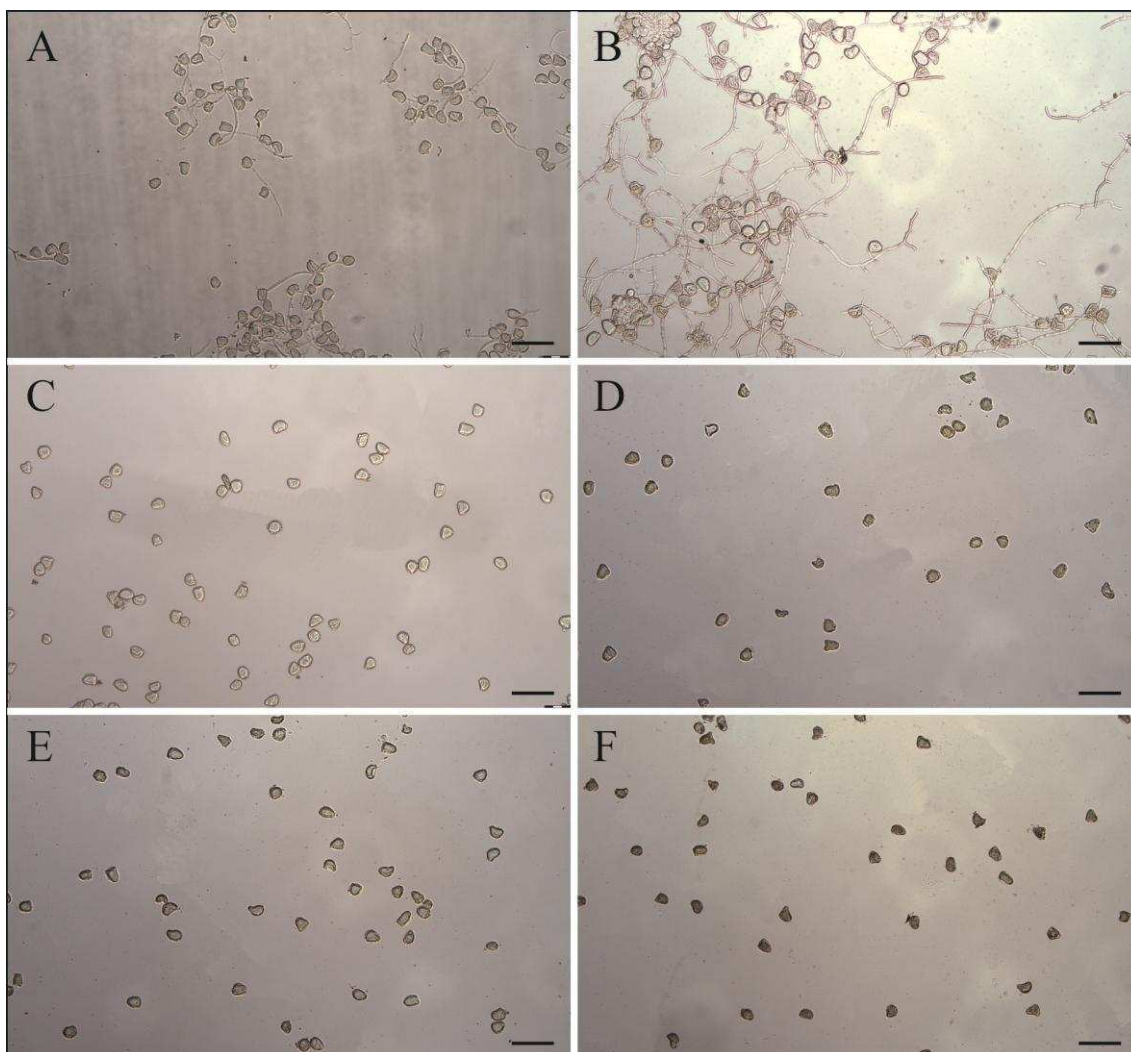


Figura 8. Germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix* sob ação de extratos foliares e caulinares de *Jatropha curcas* L. (aumento 40 x). A - H₂O; B - DMSO 2%; C - EC09-clorofórmico; D - EC05-etanólico; E - EF08-clorofórmico; F - EF03-etanólico. (Escala = 100µm).

6.4 Ensaio bactericida *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*

A atividade bactericida dos extratos de *J. curcas* foi interpretada por meio da inibição da zona de crescimento e os extratos não inibiram o crescimento de *P. syringae* pv. *garcae* (**Figura 9**). No controle positivo (com estreptomicina), não houve crescimento bacteriano, indicando a ausência de contaminação. Resultados de não inibição de crescimento foram observados em cepas de *Pseudomonas*, que causam doenças humanas, para o extrato hexânico foliar (AREKEMASE, 2011), caulinar (AHIRWAR et al., 2015; KUTA et al., 2015), látex (ABUBAKAR et al., 2017) e óleo essencial foliar (BABAHMAD et al., 2018). Porém os mesmos autores relataram

inibição da zona de crescimento do extrato foliar em diferentes solventes (AHIRWAR et al., 2015), assim como do extrato radicular (AREKEMASE, 2011).

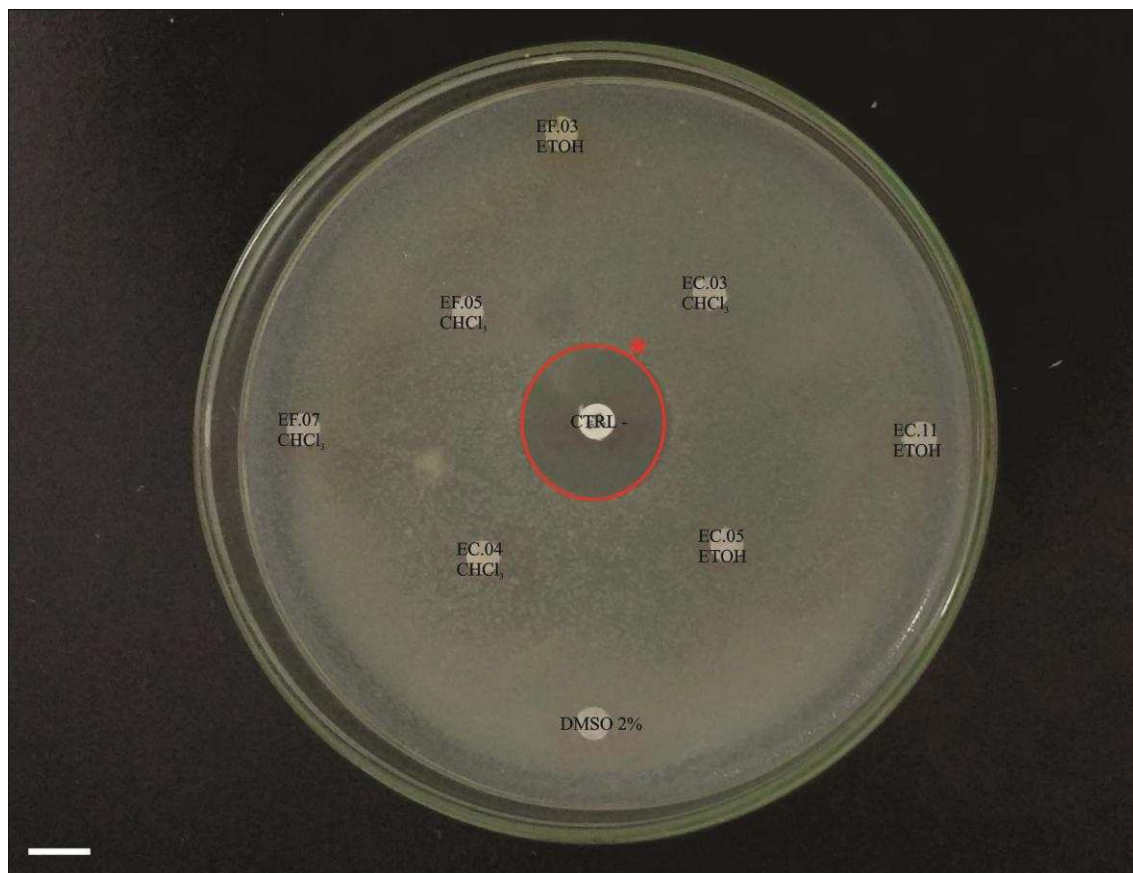


Figura 9. Resultado do antibiograma dos extratos de *Jatropa curcas* L. sobre *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. * Halo formado devido a inibição do crescimento bacteriano causado pela atividade da estreptomicina. (Escala = 0,5cm).

A diferença na atividade antimicrobiana de cada extrato pode ser atribuída às diferenças na composição das substâncias bioativas extraídas, de acordo com o solvente utilizado. Ainda podem ser citados fatores como, a técnica aplicada, a cepa utilizada no teste, época da colheita, se os extratos foram preparados a partir de plantas frescas ou secas e a quantidade de extrato testada (OSTROSKY et al., 2008).

Nas bactérias Gram negativas a membrana externa é composta por fosfolipídios e lipopolissacarídeos (SAUNDERS & LEE, 2013) com ação protetora. Essa proteção na parede celular dificulta a ação das substâncias antimicrobianas, tornando esses microrganismos mais resistentes quando comparados aos Gram positivos (GOULD, 2009). A atuação da maioria das substâncias bioativas, com atividade bactericida, ocorre, possivelmente, devido à interação com os peptidoglicanos presentes na parede

celular, e a presença de uma membrana externa nas Gram negativas isola essa barreira mais frágil (RABÊLO et al., 2014).

7 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que os extratos obtidos a partir da folha e do caule de *Jatropha curcas* L. apresentam ação fungicida, podendo auxiliar na mitigação de doenças fitopatogênicas do cafeeiro, como *Hemilea vastatrix* e *Cercospora coffeicola*.

Os extratos não foram efetivos na inibição da zona de crescimento bacteriano para cepas de *Pseudomas syringae* pv. *garcae*.

Essas pesquisas realizadas *in vitro* indicam o potencial fungicida dos extratos foliares e caulinares de *J curcas*, com melhores resultados com o uso de solventes polares, como o etanol. As pesquisas subsequentes serão direcionadas para a avaliação *in vivo* da atividade dos extratos.

8 REFERÊNCIAS

- ABUBAKAR, S; AKANBI, B.O; OSUJI, C; OLAJIDE, O.O; PHILLIP, E.A. (2016 ou 2017?) Evaluation of pharmacological potentials of *Jatropha curcas* Linn sap Euphobiaceae family. **Pharmaceutical and Biological Evaluations**. 3(3): 334-342.
- AHIRWAR, R.K; AHIRWAR, S; PANDEYA, J.P.N; MISHRA, A.S; KUMAR, K.S. (2015) Antimicrobial Activities of different plant extracts of *Jatropha curcas* Linn. **Bulletin of Environmental and Scientific Research**. 4(1-2): 21-28.
- ALVARADO-CASTILLO, G; BENÍTEZ-BADILLO, G; LOZADA-GARCÍA, J.A; ORTIZ-CEBALLOS, G.C; TORRES-PELAYO, V.R. (2017) Uredospores' mycelium germination inhibition of coffee rust (*Hemilea Vastatrix*) through three alternative compounds: First study. **Wulfenia Journal**. 24(2): 65-78.
- AMARAL, J. F.; TEIXEIRA, G. C.; PINHEIRO, E. D. (1956) A bactéria causadora da "Mancha Aureolada" do cafeeiro. **Arquivos do Instituto Biológico**. 23: 151-155.
- ANDROCIOLI, H.G; MENEZES JÚNIOR, A.O; HOSHINO, A.T; ANDROCIOLI, L.G. (2012) Produtos alternativos no controle da *Hemilea vastatrix* (Berkeley & Broome) e *Cercospora coffeicola* (Berkeley & Cooke) em cafeeiros. **Coffee Science**. 7(2): 187-197.

- AREKEMASE, M.O. (2011) Antimicrobial activity and phytochemical analysis of *Jatropha curcas* plant against some selected microorganisms. **International Journal of Biology**. 3(3): 52-59.
- AZWANIDA, N.N. (2015) A review on the extraction methods use in medicinal plants. **Principle, Strength and Limitation Medicinal & Aromatic Plants**. 4(3): 1-6.
- BABAHMAD, R.A; AGHRAZ, A; BOUTAFDA, A; PAPAZOGLU, E.G; TARANTILIS, P.A; KANAKIS, C; HAFIDI, M; OUHDOUCH, Y; OUTZOURHIT, A; OUHAMMOU, A. (2018) Chemical composition of essential oil of *Jatropha curcas* L. leaves and its antioxidant and antimicrobial activities. **Industrial Crops & Products**. 121: 405-410.
- BORGES, D.I; ALVES, E; MORAES, M.B de; OLIVEIRA, D.F. (2013) Efeito de extratos e óleos essenciais de plantas na germinação de uredinósporos de *Phakopsora pachyrhizi*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 15(3): 325-331.
- BRUM, A.A.S; ARRUDA, L.F; REGITANO-D'ARCE, M.A.B. (2009) Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Química Nova**. São Paulo, 32(4): 849-854.
- CABRERA, L.Y. (2017) Pesticides: a case domain for environmental neuroethics. **Cambridge Quarterly of Healthcare Ethics**. 26: 602-615.
- CARDOSO, P. M. R.; DIAS, L. A. S.; RESENDE, M. D. V.; FREITAS, R. G.; CORRÊA, T. R.; MUNIZ D. R.; ZAIDAN, I. R. (2018) Genetic evaluation and selection in *Jatropha curcas* L. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.18, n.2, p.192-199.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (2018) **Acompanhamento da safra brasileira: café. Boletim Café dezembro 2018**. Brasília, 5(4): 84p.
- DÉSERT, M; RAVIER, S; GILLE, G; QUINAPALLO, A; ARMENGAUD, A; POCHET, G; SAVELLI, JL; WORTHAM, H; QUIVET, E. (2018) Spatial and temporal distribution of current-use pesticides in ambient air of Provence-Alpes-Côte-d'Azur region and Corsica, France. **Atmospheric Environment**. 192: 241-256.
- DIAS, L. A. S.; BARROS, W. S. **Biometria experimental**. Viçosa, MG: Suprema, 2009. 408p.

- DONLAPORN, S; SUNTORNSUK, W. (2010) Antifungal activities of ethanolic extract from *Jatropha curcas* seed cake. *Journal Microbiology Biotechnology*. 20(2): 319-324.
- GODOY, C.V.; BERGAMIN FILHO, A.; SALGADO, C.L. (2016) **Doenças do cafeeiro**. In: AMORIM, L; REZENDE, J.A.M; BERGAMIN FILHO, A; CAMARGO, L.E.A. Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, cap.21, p.184-200.
- GOULD, D. (2009) Effective strategies for prevention and control of Gram negative infections. **Nursing Standard**. 23(48): 42-46.
- HALLMANN, J; DAVIES, K.G; SIKORA, R. (2009) Biological control using microbial pathogens, endophytes and antagonists. In: Perry, R.N; Moens, M; Starr, J.L. (Eds.), Root-knot Nematodes. CAB International, Wallingford, p. 380-411.
- HAWKINS, N.J; BASS, C; DIXON, A; NEVE, P. (2018) The evolutionary origins of pesticide resistance. **Biological Reviews**. 1-21.
- HORBACH, R; LUDWIG, N; LOEHRER, M; HEMPEL, M; MATHEA, S; SCHLIEBNER, I; MeENZEL, M; KIESOW, A; SCHAFFRATH, U; DEISING, H.B. (2013) Melanin is not required for turgor generation but enhances cell wall rigidity in appressoria of the corn pathogen *Colletotrichum graminicola*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**. 27: 315-327
- ICO - INTERNATIONAL COFFEE ORGANIZATION (2018) **Estatísticas do Comércio**. Londres.
- JACOBSON, E.S. (2000) Pathogenic roles for fungal melanins. **Clinical Microbiology Reviews**. 13: 708-717.
- KIMURA, O; ROBBS, C.F; FERRARI, J.A.R. (1976) Algumas observações relacionadas com as bacterioses do cafeeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PESQUISAS CAFEEIRAS. 4, 1976, Caxambu. Resumos. Rio de Janeiro: IBC/GERCA, p.104.
- KUTA, F.A; SAIDU, A.N; ALUWO, H.H. (2015) Antibacterial activity of the stem bark of *Jatropha curcas* L. against four bacteria species. **Brazilian Journal of Biological Sciences**. 2(3): 75-78.
- MADIGAN, M.T; MARTINKO, J.M; BENDER, K.S; BUCKLEY, D.H; STAHL, D.A. (2016) Crescimento e controle microbiano. In: MADIGAN, M.T; MARTINKO, J.M; BENDER, K.S; BUCKLEY, D.H; STAHL, D.A. **Microbiologia de Brock**. 14. ed. Porto Alegre: Artmed. cap. 5, p. 143-176.

- MARTINS, C.R; LOPES, W.A; ANDRADE, J.B. (2013) Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**. 36: 1248-1255.
- MATTEI, C; WORTHAM, H; QUIVET, E. (2018) Heterogeneous atmospheric degradation of pesticides by ozone: influence of relative humidity and particle type. **Science Total Environment**. 625: 1544-1553.
- MENTEN, J.O. (2017) Registro de produtos fitossanitários no Brasil: necessidade de agilização. **Jornal Dia de Campo**. Disponível em: <http://www.diadecampo.com.br/zpublisher/materias/Materia.asp?secao=Artigos%20Especiais&id=34084>.
- MIRESMAILLI, S; ISMAN, M.B. (2014) Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. **Trends in Plant Science**. 19(1): 29-35.
- MOURA, G.S; FRANZENER, G; STANGARLIN, J.R; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. (2014) Atividade antimicrobiana e indutora de fitoalexinas do hidrolato de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. 16(2): 309-315.
- NAHUNNARO H; TUNWARI, B.A. (2012) Field management of cercospora leaf spot induced by *Cercospora sesami* Zimm. using plant extracts and a synthetic fungicide as a method of reducing the effects on agronomic traits associated with yield of sesame (*Sesamum indicum* L.). **Journal of Agriculture and Veterinary Science**. 1(4): 23-28.
- OSTROSKY, E.A; MIZUMOTO, M.K; LIMA, M.E.L; KANEKO, T.M; NISHIKAWA, S.O; FREITAS, B.R. (2008) Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 18(2): 301-307.
- PEDRAS-ROJAS, J.P; FIGUEROA-MATA, G; RAMÍREZ-MONTERO, M; CALDERÓN-FALLAS, R.A; RAMÍREZ-BOGANTES, M; TRAVIESO, C.M. (2018) Diagnóstico automático de infestación por Nosemiasis en abejas melíferas mediante procesado de imágenes. **Tecnología en Marcha**. 31(2): 14-25.
- PEREIRA, C.S; GUIMARÃES, R.J; POZZA, E.A; SILVA, A.A. (2008) Controle da cercosporiose e da ferrugem do cafeeiro com extrato etanólico de própolis. **Revista Ceres**. 55(5): 369-376.
- PEREIRA, R.B; LUCAS, G.C; PERINA, F.J; ALVES, E. (2012a) Essential oils for rust control on coffee plants. **Ciência e Agrotecnologia**. 36(1): 16-24.

- PEREIRA, R.B; PINHEIRO, J.B; CARVALHO, A.D.F. (2012b) Identificação e manejo das principais doenças fúngicas do meloeiro. **Embrapa Hortaliças: Circular Técnica, 112**. Brasília, DF: Embrapa Hortaliças.
- PUPO, M.T; GALLO, M.B.C. (2007) Uma estratégia moderna para a pesquisa em produtos naturais. **Química Nova**. 30(6): 1446-1455.
- QUIJANO, M; RIERA-RUÍZ, C; BARRAGÁN, A; MIRANDA, M; ORELLANA, T; MANZANO, P. (2014) Molluscicidal activity of the aqueous extracts from *Solanum mammosum* L., *Sapindus saponaria* L. and *Jatropha curcas* L. against *Pomacea canaliculata*. **Emirates Journal of Food and Agriculture**. 26(10): 871-877.
- QUIROGA, E.N; SAMPIETRO, A.R; VATTUONE, M.A. (2001) Screening antifungal activities of selected medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**. 74: 89-96.
- RABÊLO, S.V; COSTA, M.M; LIBÓRIO, R.C; ALMEIDA, J.R.G.S. (2014) Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de atemoia (*Annona cherimola* Mill. x *A. squamosa* L.) **Revista Brasileira de Fruticultura**. 36(edição especial): 265-271.
- REVANKAR, S.G; SUTTON, D.A. (2010) Melanized fungi in human disease. **Clinical Microbiology Reviews**. 23: 884-928.
- RODRIGUES, L.M.R; ALMEIDA, I.M.G; PATRÍCIO, F.R.A; BERIAM, L.O.S; MACIEL, K.W; BRAGHINI, M.T; GUERREIRO FILHO, O. (2013) Mancha aureolada do cafeeiro causada por *Pseudomonas syringae* pv. *garcae*. **Série Tecnologia Apta. Boletim técnico IAC, 212**. Campinas: Instituto Agrônômico.
- SALUSTIANO, M.E; FERRAZ FILHO, A.C; POZZA, E.A; CASTRO, H.A de. (2006) Extratos de candeia (*Eremanthus erythropappus* (dc.) MacLeish) na inibição in vitro de *Cylindrocladium scoparium* e de quatro espécies de ferrugens. **Cernes**. 12(2): 189-193.
- SANGAVI, R; EDWARD, Y.S.J.T. (2017) Anti-insect of plant extracts on the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**. 6(12): 28-39.
- SARMENTO-BRUM, R.B.C; CASTRO, H.G; SILVA, M.L; SARMENTO, R.A; NASCIMENTO, I.R; SANTOS, G.R. (2014) Effect of plant oils in inhibiting the mycelial growth of pathogenic fungi. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. 5(1): 63-70.
- SAUNDERS, N.A; LEE, M.A. (2013) Real-time PCR: Advanced Technologies and Applications. **Horizon Scientific Press**. Salisbury

- SILVA, J.L.; SOUZA, P.E; MONTEIRO, F.P; FREITAS, M.L.O; SILVA JÚNIOR, M.B; BELAN, L.L. (2014) Antifungal activity using medicinal plant extracts against pathogens of coffee tree. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. Campinas, 16(3): 539-544.
- SIMÕES, C.M.O; SCHNKEL, E.P; GOSMANN, G; MELLO, J.C.P; MENTZ, L.A; PETROVICK, P.R. (2007) Farmacognosia da planta ao medicamento. Ed 6ª, Editora da Universidade Federal de Santa Catarina.
- TERNA, T.P; SIMON, A. (2017) Biological control of some fungal pathogens of tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) using ethanolic leaf extracts of plants. **Journal of Environmental and Agricultural Sciences**. 13: 9-15.
- VAN DE SANDE, W.W.J; K.A.T, J; COPPENS, J; AHMED, A.O.A; FAHAL, A; VERBRUGH, H; VAN BELKUM, A. (2007) Melanin biosynthesis in *Madurella mycetomatis* and its effect on susceptibility to itraconazole and ketoconazole. **Microbes and Infection**. 9: 1114-1123.
- VASCONCELOS, Y. (2018) Agrotóxicos na berlinda. **Pesquisa FAPESP**. 271: 18-27.
- Z Aidan, I. (2018) **Potencial biocida de extratos de *Jatropha curcas* L. sobre *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola***. 53f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- ZAMBOLIM, L; VALE, F.X.R; PEREIRA, A.A; CHAVES, G.M. (1997) **Café (*Coffea arabica* L.) controle de doenças causadas por fungos, bactérias e vírus**. In: VALE, F.X.R; ZAMBOLIM, L. Controle de doenças em plantas. Viçosa-MG: Supre Gráfica e Editora. p.83-180.
- ZAMBOLIM, L; VALE, F.X.R; COSTA, H; PEREIRA, A.A; CHAVES, G.M. (2002) **Epidemiologia e controle integrado da ferrugem do cafeeiro**. In: ZAMBOLIM, L (Ed). O Estado da arte de tecnologias na produção de café. Viçosa-MG: Universidade Federal de Viçosa. Cap. 10, p. 369-450.