## **IASMINE RAMOS ZAIDAN**

# POTENCIAL BIOCIDA DE EXTRATOS DE Jatropha curcas L. SOBRE Hemileia vastatrix e Cercospora coffeicola

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

VIÇOSA MINAS GERAIS – BRASIL 2018

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

T

Zaidan, Iasmine Ramos, 1992-

Z21p 2018 Potencial biocida de extratos de *Jatropha curcas* L. sobre *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola* : / Iasmine Ramos Zaidan. – Viçosa, MG, 2018.

vii, 44 f.: il. (algumas color.); 29 cm.

Orientador: Luiz Antônio dos Santos Dias. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa. Referências bibliográficas: f. 31-44.

1. Pinhão-manso. 2. Inseticidas vegetais. 3. Metabólitos. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.85

#### **IASMINE RAMOS ZAIDAN**

# POTENCIAL BIOCIDA DE EXTRATOS DE Jatropha curcas L. SOBRE Hemileia vastatrix e Cercospora coffeicola

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

APROVADA: 03 de julho de 2018.

João Paulo Viana Leite (Coorientador) Olinto Liparini Pereira (Coorientador)

Rafael Tassinari Resende

Luiz Antônio dos Santos Dias (Orientador) A Deus por ter me sustentado, abençoado e permitido que eu chegasse até aqui; Ao meu pai, Marcos, por todo incentivo, por ser meu exemplo e porto seguro; À Úrsula, minha irmã, pela cumplicidade, paciência e carinho em todos os momentos; Ao Samir, meu querido irmão, pelo exemplo de determinação, disciplina e coragem; E ao meu anjo da guarda, Mãe, sua vontade de viver me incentivou a lutar pelos meus sonhos, estes que também são seus!

Dedico.

#### **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus, por todas as graças e bênçãos até hoje concedidas, por ter me guiado na busca deste sonho e por ter me sustentado nos momentos de fraqueza, fortalecendo meu coração e iluminando meu caminho.

À minha família, pelo amor incondicional. Agradeço ao meu pai, Marcos, pela confiança, por ser meu exemplo de força, meu porto seguro e esteio em todos os momentos; à Úrsula, minha irmã, pelo companheirismo de todos os dias, o carinho, a cumplicidade e o apoio; ao meu irmão, Samir, por ser meu exemplo de disciplina, persistência e coragem; à minha cunhada Cris pela doçura, carinho e amizade. Agradeço, em especial, a minha mãe, Ângela (*in memoriam*), por todo amor dedicado, por ter sido meu exemplo de vontade de viver e incentivadora de todos os meus sonhos! À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Fitotecnia, pelo ensino de excelência e por me proporcionar a oportunidade de aperfeiçoar meus conhecimentos durante o curso de Mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Luiz Antônio dos Santos Dias pela amizade, disponibilidade, orientação e por toda paciência.

Aos professores Olinto Liparini Pereira, João Paulo Viana Leite e Jorge Luis Badel Pacheco, pela transferência de conhecimentos e por todo suporte durante a execução do experimento.

A companheira de trabalho Dandara Rêgo Muniz, pela amizade, companheirismo, paciência e pela dedicação na condução do experimento que proporcionou a elaboração deste trabalho.

Ao professor Rafael Tassinari pelo auxílio nas análises estatísticas.

As colegas dos Laboratórios por toda ajuda no processo de instalação e avaliação dos experimentos. Aos funcionários do campo experimental de Araponga pela ajuda no processo de coleta das amostras.

Enfim, todo meu reconhecimento e gratidão àqueles que de alguma forma contribuíram para a realização desta pesquisa.

#### **BIOGRAFIA**

IASMINE RAMOS ZAIDAN, filha de Marcos Tadeu Neves Zaidan e Ângela Márcia Ramos Zaidan, nasceu em 24 de fevereiro de 1992, no município de Viçosa, MG. Possui ensino médio (2º grau completo) pelo colégio Nossa Senhora do Carmo, de Viçosa, MG (2009). Graduou-se em Agronomia pela Universidade Federal de Viçosa (2015). Durante a graduação, foi estagiária do CENTREINAR, da Universidade Federal de Viçosa (2013) e da EMATER-MG (2015). Foi bolsista de iniciação científica vinculada ao projeto "Influência da atmosfera modificada e refrigeração sobre propriedades físico-químicas e reológicas da Atemoia (*Annona Squamosa* L.) durante o armazenamento", financiado pela PROBIC/FAPEMIG, na Universidade Federal de Viçosa (2013). Foi ainda bolsista de iniciação científica vinculada ao projeto "Estudo e caracterização do processo de produção de graviola em pó através de secagem em leito de espuma", financiado por PIBIC/CNPq, na Universidade Federal de Viçosa (2014). Em agosto de 2016, ingressou no curso de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela Universidade Federa de Viçosa, na área de Biotecnologia.

# SUMÁRIO

RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Jatropha curcas L	4
2.2 Metabólitos secundários	10
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1 Coleta das amostras de <i>Jatropha curcas</i> L	13
3.2 Trituração das amostras	13
3.3 Preparação dos extratos	13
3.3.1 Rendimento dos extratos	14
3.4 Ensaio antifúngico para Hemileia vastatrix	14
3.5 Ensaio antifúngico para Cercospora coffeicola	15
3.5.1 Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC)	16
3.7 Análises estatísticas.	16
3.7.1 Análise estatística univariada	16
3.7.2 Análise estatística multivariada	16
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4.1 Rendimento dos extratos	17
4.2 Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC)	17
4.3 Ensaio antifúngico para <i>Hemileia vastatrix</i>	18
4.4 Ensaio antifúngico para Cercospora coffeicola	24
5. CONCLUSÕES	32
6. REFERÊNCIAS	33

#### **RESUMO**

ZAIDAN, Iasmine Ramos, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, julho de 2018. **Potencial biocida de extratos de** *Jatropha curcas* **L. sobre** *Hemileia vastatrix* **e** *Cercospora coffeicola*. Orientador: Luiz Antônio dos Santos Dias. Coorientadores: João Paulo Viana Leite, Olinto Liparini Pereira e Jorge Luis Badel Pacheco.

Jatropha curcas L. pertence à família Euphorbiaceae e é conhecida popularmente como pinhão-manso, cujo centro de origem e domesticação é o México. A toxicidade da espécie têm impulsionado pesquisas na produção de extratos para o controle de doenças de plantas. Logo, o objetivo deste trabalho foi desenvolver um novo biocida botânico, extraído de folhas e cascas do caule de J. curcas, para o controle dos fungos Hemileia vastatrix e Cercospora coffeicola, causadores de duas das principais doenças do cafeeiro, ferrugem e cercosporiose, respectivamente. Foram coletadas amostras de folhas e cascas de caule referentes a 10 acessos de *J. curcas*, as amostras foram secas, trituradas e para a preparação dos extratos foram utilizados 20 g de folha e 40 g caule e dois solventes, etanol e clorofórmio. A extração exaustiva foi feita pelo método de Soxhlet, por um período de 4 horas para cada solvente. Para o teste com H. vastatrix depositou-se, sobre lâminas, 15 µL de suspensão de esporos e 15 µL do extrato. Para o teste com C. coffeicola foram adicionados nas placas de Petri 15 mL de meio BDA e 1 mL de extrato de casca de caule, após a solidificação do meio, foi colocado um disco 5 mm de BDA contendo micélio de C. coffeicola sobre ele. Os extratos de folhas e cascas de caule não permitiram a germinação dos uredósporos de H. vastatrix. Em C. coffeicola os extratos promoveram inibição no desenvolvimento do fungo. Concluiu-se que os 10 extratos de casca de caule e folha de J. curcas L. extraídos em solventes etanólico e clorofórmico se mostraram eficientes no controle do fungo H. vastatrix; nos testes com C. coffeicola, os extratos caulinares do acesso 3 em etanol e do acesso 8 em clorofórmio se mostraram mais eficientes que os demais na inibição do desenvolvimento do fungo e o extrato caulinar etanólico se mostrou mais tóxico que o clorofórmico nos ensaios com o fungo C. coffeicola.

#### **ABSTRACT**

ZAIDAN, Iasmine Ramos, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, July, 2018. **Biocide potential of extracts of** *Jatropha curcas* **L. on phytopathogenic fungi** *Hemileia vastatrix* **and** *Cercospora coffeicola*. Advisor: Luiz Antônio dos Santos Dias. Coadvisors: João Paulo Viana Leite, Olinto Liparini Pereira e Jorge Luis Badel Pacheco.

Jatropha curcas L. belongs to the family Euphorbiaceae and is popularly known as physic nut, whose center of origin and domestication is Mexico. The toxicity of the species has driven research into the production of extracts for the control of plant diseases. Therefore, the aim of this study was to develop a new biocide botanical extracted from leaf and stem bark of J. curcas, to control the fungi Hemileia vastatrix Cercospora coffeicola, causing two of the main diseases of coffee, rust and cercosporiosis, respectively. Leaf and stem bark samples were collected from 10 accessions. Such samples were dried, ground and 20 g of leaf and 40 g of bark and two solvents, ethanol and chloroform, were used to prepare the extracts. Exhaustive extraction was done by the Soxhlet method, for a period of 4 hours for each solvent. For the test with H. vastatrix, 15 µL of spore suspension and 15 µL of the extract were deposited on slides. For the C. coffeicola test, 15 mL of BDA medium and 1 mL of stem bark extract were added to the petri dishes, after solidification of the medium, a 5 mm BDA disc containing C. coffeicola mycelium was placed on it. Leaf extracts and stem bark did not allow the germination of H. vastatrix uredospores. In C. coffeicola the extracts promoted inhibition in the development of the fungus. It was concluded that the 10 extracts of stem bark and leaf of J. curcas extracted in ethanolic and chloroformic solvents were efficient in controlling the *H. vastatrix* fungus; in the tests with the *C.* coffeicola the stem extracts in ethanol of accession 3, and accession 8 in chloroform, were more effective than others in inhibiting fungal growth and stem ethanolic extract was more toxic than chloroform in tests with *C. coffeicola*.

# 1. INTRODUÇÃO

A busca por fontes energéticas alternativas ao petróleo tem impulsionado pesquisas com culturas oleaginosas que possam suprir a crescente demanda mundial por combustíveis renováveis. Dentre as espécies estudadas, a *Jatropha curcas* L. apresenta um cenário bastante positivo por ser uma cultura com múltiplas funcionalidades. Além de servir como matéria-prima para a produção de biodiesel, apresenta propriedades medicinais, pode ser utilizada na recuperação de áreas degradadas e como cerca viva, possui propriedades para a produção de tintas e sabão, e ainda tem efeito biocida sobre pragas e doenças de plantas.

Jatropha curcas, popularmente conhecida como pinhão-manso, é uma espécie oleaginosa pertencente à família Euphorbiaceae. Devido ao alto teor de óleo de suas sementes (38%, em média), apresenta grande potencial para a produção dos biocombustíveis líquidos: biodiesel e bioquerosene (DIAS et al., 2012; ZANON, 2012). Por ser uma cultura rústica que se desenvolve em solos pouco férteis e em condições de clima desfavoráveis, apresenta caráter promissor em cultivos no sudeste, nordeste e centro-oeste do Brasil. A utilização da espécie para produzir biodiesel favorece a diversificação da produção que tem hoje como principais matérias-primas a soja, a gordura animal e o algodão (FREITAS, 2015; ANP, 2013; CARDOSO, 2014).

A planta apresenta vantagens sobre as demais oleaginosas, tais como: não é uma espécie alimentar; é perene e portanto não precisa de renovação anual do plantio e tem boa produtividade de óleo (1,9 t.ha<sup>-1</sup>) e alto potencial de rendimento de grãos (5 t.ha<sup>-1</sup>). Outro fator que favorece o seu cultivo para a produção de biodiesel é a excelência do seu óleo, rico em ácido oléico (DIAS, 2011; CARDOSO, 2014; LAVIOLA et al., 2015).

Outro destaque da espécie reside no seu caráter medicinal, atributo responsável pela nomenclatura da espécie que deriva da palavra grega *jatros* que significa doutor, e *trophe* que significa alimento (KUMAR e SHARMA, 2008). Em pesquisas realizadas com esta espécie observou-se sua ação anti-inflamatória, antidiabética, anticancerígena e cicatrizante (UCHE e APRIOKU, 2008; NAYAK e PATEL, 2010; JAISWAL, 2010 JAYAKUMAR et al., 2010; ALONSO-CASTRO et al., 2011; DEVAPPA et al., 2011; SACHDEVA et al., 2011).

A espécie possui potencial biocida, atribuído aos compostos tóxicos e antinutricionais contidos em todos os seus órgãos. Suas folhas, frutos, látex e casca contêm glicosídeos, taninos, fitoesteróis, flavonóides e sapogeninas esteróides que apresentam amplas propriedades medicinais e biocidas. Os metabólitos secundários presentes na espécie são considerados como biorecursos, e são de interesse para o desenvolvimento de produtos para a indústria farmacêutica, e também para o controle de insetos-praga e fitopatógenos, que será abordado posteriormente. Dentro das classes de metabólitos secundários presentes estão os flavonoides, alcaloides, cumarinas, lignano-cumarinas, antraquinonas, glucosídeos não cianogênicos, ciclopeptídeos, fitoesterois, terpenos, entre outros (DEBNATH e BISEN, 2008; CORDOBA-ALBORES, 2014).

O Brasil é um dos países que mais utiliza defensivos agrícolas no controle de pragas e doenças de plantas, representando 50% do consumo da América Latina e cerca de 2,5 bilhões de dólares são gastos com a aquisição desses produtos (PRADO et al., 2013; SOUZA et al., 2017). Entretanto, é crescente a demanda por produtos orgânicos, isentos de resíduos de agrotóxicos e produzidos em sistemas ambientalmente sustentáveis, para isso os produtores têm adotado produtos alternativos para o controle de fungos fitopatogênicos (TEQUIDA-MENESES et al., 2002; SILVA-CRUZ et al., 2015; SOUZA et al., 2017). Dentre os extratos vegetais mais utilizados no controle de doenças de plantas tem-se o de alho (SANTOS et al., 2010; SOUZA e SOARES, 2013), neem (ALMEIDA et al., 2009) e o de pimenta (RIBEIRO e BEDENDO, 1999).

A cafeicultura que é, sem dúvida, uma atividade de extrema relevância para o Brasil. O país não é só o maior produtor mundial do grão, mas também o maior exportador e o segundo maior consumidor. Dentre os estados produtores Minas Gerais se destaca sendo uma atividade econômica tradicional e extensamente distribuída. O estado é o maior produtor do país, respondendo por cerca de 50% da produção nacional e por 75% da produção total de café arábica (RUFINO et al., 2010; ABIC, 2017).

A produção e comercialização do café orgânico, sem o uso de defensivos químicos e fertilizantes, têm crescido mundialmente nos últimos anos gerando oportunidades de mercado em diversas regiões e agregando valor ao produto final (MOURA et al., 2015; MATIELLO et al., 2017). Conforme Vegro e Campos (2013) a exportação de café orgânico triplicou em 2012 com relação ao ano de 2005, aproximando-se de um milhão de sacas, o Brasil produziu o dobro passando de 10 mil

sacas para 20,6 mil sacas neste mesmo período. O mercado faturou mais de US\$ 230 milhões, contudo as exportações brasileiras não se expandiram nessa mesma proporção, o resultado cambial transitou entre US\$ 7 a US\$ 8 milhões nos últimos dois anos (VEGRO e CAMPOS, 2013). Os países que mais consomem este tipo de produto são os EUA, Alemanha, Bélgica, Suécia, Japão e Canadá e concentrando 80% de toda a exportação de café orgânico estão os países de Honduras, Etiópia, México, Nicarágua e Colômbia (CECAFÉ, 2012).

A ferrugem do cafeeiro causada pelo fungo biotrófico *Hemileia vastatrix* é a principal doença que afeta a cultura do café, causando prejuízos devido à desfolha e consequente seca dos ramos produtivos antes da época de florescimento da planta, prejudicando o desenvolvimento dos botões florais, vingamento da florada, desenvolvimento dos frutos e redução da produtividade. No Brasil, as variedades mais cultivadas no país são susceptíveis a ferrugem (SILVA, et al., 2016; FARIA et al., 2017). A severidade da doença está diretamente relacionada com as condições edafoclimáticas em que a planta se encontra. Dependendo da altitude, das condições do clima e do estado nutricional da planta a ferrugem pode ocasionar perdas de até 50% na produção (ZAMBOLIM et al., 2005; CARVALHO et al., 2017).

Outra doença que também causa sérios danos à qualidade do café é a cercosporiose, que tem como agente causal o fungo *Cercospora coffeicola*. O fungo causa desfolha, amadurecimento precoce e queda prematura dos frutos, gerando chochamento dos mesmos (FARIA et al., 2017). Esta doença tem larga distribuição geográfica, e atualmente vem demonstrando grande agressividade em cafezais, podendo causar até 30% de queda da produção (ZAMBOLIM et al., 1999; ZAMBOLIM et al., 2015; SILVA et al., 2015)

Para o controle de pragas e doenças em plantas são utilizados inseticidas e fungicidas sintéticos. Mas, o uso indiscriminado e intensivo de tais produtos pode selecionar populações de pragas e patógenos resistentes, tornando o controle cada vez mais difícil, oneroso e menos eficiente. Em contrapartida, os derivados de planta, na forma de extratos e óleos, são amplamente conhecidos pela sua diversidade química e pela sua variada aplicação na indústria. São produtos naturais extraídos de plantas e constituem fonte de substâncias bioativas compatíveis com programas de manejo integrado de pragas e doenças, o que pode reduzir os efeitos nocivos ocasionados pela

aplicação de inseticidas e fungicidas organossintéticos ao meio ambiente (MACIEL et al., 2002; MEDEIROS et al., 2005; THULLER et al., 2008; ZOTTI et al., 2010). Em *J. curcas* todas as partes da planta são tóxicas e o grau de toxicidade varia de acordo com o extrato preparado, natureza da substância-teste, dose e modo de administração, e com a sensibilidade do indivíduo (DEVAPPA et al., 2010).

O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um novo extrato botânico, a partir de folha e casca do caule de *Jatropha curcas* L. e testá-lo sobre os fungos fitopatogênicos do cafeeiro *Hemileia vastatrix*, causador da ferrugem, e *Cercospora coffeicola*, causador da mancha-de-olho-pardo ou cercosporiose.

#### 2. REVISÃO DE LITERATURA

#### 2.1 Jatropha curcas L.

J. curcas é uma espécie pertencente à família Euphorbiaceae, conhecida popularmente como pinhão-manso, que tem como centro de origem e domesticação o México (DIAS et al., 2012; CAB INTERNATIONAL, 2013). Todavia, esta planta pode ser cultivada em todo mundo, incluindo países da América Latina, África e Ásia, assim como pode ser encontrada em todas as regiões do Brasil, devido à sua rusticidade, resistência a longas estiagens, sendo adaptável a condições edafoclimáticas muito variáveis, desde a região Nordeste, Sudeste até o estado do Paraná (SATURNINO et al., 2005; BRASILEIRO et al., 2013; RIBEIRO et al., 2017; ROQUE et al., 2017).

A planta apresenta crescimento rápido e normalmente possui de 2 a 3 m de altura, podendo atingir até 5 m, dependendo das condições em que se encontra e, portanto, pode ser considerada um arbusto grande ou árvore pequena (ABDELGADIR e VAN STADEN, 2013). O tronco é ramificado desde a base com numerosas cicatrizes proveniente da queda das folhas na época da seca; seu caule é liso de lenho mole e com um diâmetro de aproximadamente 20 cm; suas raízes são curtas e pouco ramificadas. As folhas são verdes, brilhantes, esparsas, largas e alternas, com um comprimento e uma largura de 6 a 15 cm, têm forma de palma com 3 a 5 lóbulos, pecioladas e com nervuras esbranquiçadas e salientes na face inferior. Os pecíolos são redondos, lisos, com 4 a 6 cm de comprimento e estípulas ausentes.

É uma planta caducifólia, ou seja, suas folhas caem total ou parcialmente no final da estação das chuvas ou no período do frio. Durante esse período, a planta

permanece em repouso até o início da primavera ou estação chuvosa. A queda das folhas (senescência) é devido a vários processos que regulam o desenvolvimento e causam a morte de células, dentre eles estão fatores como a temperatura mínima reduzida e o aumento da faixa térmica, os quais parecem ser determinantes para a ocorrência de senescência foliar (MATOS et al., 2012). O mais óbvio evento que caracteriza a senescência é o amarelecimento das folhas e a degradação da clorofila (KRUPINSKA e HUMBECK, 2008; MATOS et al., 2012).

Como na mesma planta são encontradas flores dos dois sexos, a espécie é considerada monóica. A planta possui flores masculinas e femininas em inflorescências terminais, sendo a flor feminina central cercada por flores masculinas. As flores femininas são muito maiores e, em comparação com as masculinas, são aproximadamente duas vezes o diâmetro do pedúnculo. As flores hermafroditas também são encontradas, entretanto, em número menor (HELLER, 1996; DIAS et al., 2007; DOMERGUE e PIROT, 2008, BRASILEIRO et al., 2012). A polinização da planta é feita por abelhas, trips, formigas e moscas. O florescimento inicia-se, normalmente, após um período de dormência da planta. No Brasil, ele ocorre após o inverno, quando a temperatura e a precipitação estão em alta (DIAS et al., 2007; JONGSCHAAP et al., 2007; TOMINAGA et al., 2007; JUHÁSZ et al., 2009).

O fruto tem de 1,5 a 3 cm de diâmetro, é capsular ovóide, seco, deiscente, coriáceo, trilocular, com uma semente por lóculo. É formado por uma casca dura e lenhosa ou pericarpo, inicialmente verde, passando à amarela, castanha e, por fim, preta, quando atingir a maturação fisiológica (PESSOA et al., 2012; VIRGENS et al., 2017). Seu peso varia ente 1,5 e 2,8 g, sendo que 53 a 62% deste peso equivalem às sementes, enquanto 38 a 47% do peso referem-se à casca. As sementes são relativamente grandes, e quando secas medem entre 1,5 e 2 cm de comprimento e 1 e 1,3 cm de largura. O tegumento é rijo e quebradiço, e na parte inferior ao invólucro da semente tem uma película branca cobrindo a amêndoa. O albúmen é abundante, branco, oleaginoso, contendo o embrião provido de dois largos cotilédones (HELLER, 1996; SATURNINO et al., 2005; DIAS et al., 2007; DOMERGUE e PIROT, 2008; FREITAS, 2015).

*J. curcas* desenvolve-se bem em áreas onde o índice pluviométrico anual varia entre 480 a 2380 mm e temperaturas médias anuais entre 18 e 28 °C. A espécie pode ser encontrada em altitudes que variam desde o nível do mar chegando aos 1000 m

(PEIXOTO, 1973; SATURNINO et al., 2005). Quando o plantio ocorre no início da estação chuvosa, a produção dos frutos começa já no primeiro ano de cultivo, porém só atinge o máximo de produção a partir do quarto ano, podendo produzir por mais de 40 anos (TOMINAGA et al., 2007). De acordo com o espaçamento utilizado a planta pode atingir produtividades que podem ultrapassar os 6.000 kg.ha<sup>-1</sup> de sementes e, alcançando tais valores, é possível produzir mais de 2.000 kg.ha<sup>-1</sup> de óleo. Todavia, com os avanços do melhoramento genético e o aperfeiçoamento do sistema de manejo e produção, acredita-se que possa produzir acima de 4.000 kg.ha<sup>-1</sup> de óleo (LAVIOLA e DIAS, 2008; FREITAS, 2015).

O benefício potencial de se cultivar *J. curcas* deve-se ao seu caráter multiuso, visto que a planta possui capacidade de produção de biodiesel em consequência do seu elevado teor de óleo em suas sementes, apresenta boa adaptabilidade a terras marginais e em uma variedade de condições agroclimáticas, não competitividade com produção de alimentos, alta produtividade de biomassa, pode ser utilizada na fabricação de ração, se devidamente destoxificada, e fertilizantes e por possuir caráter biocida no controle de pragas e doenças de plantas (PUA et al., 2011; AKASHI, 2012; PANDEY et al., 2012; KHALIL et al., 2013).

A primeira funcionalidade da planta é o seu cultivo para a produção de biodiesel para suprir as crescentes demandas por fontes de energia renováveis e bioquerosene para aviação. A planta é considerada uma ótima alternativa para a produção de biodiesel, porque suas sementes possuem, em média, alto conteúdo de óleo (38%) (DIAS et al., 2012; ZANON, 2012). A demanda por combustíveis alternativos que causem menores danos ao meio ambiente e que diminua a dependência do petróleo é crescente. Neste contexto, tem-se o cultivo de *J. curcas* com um cenário bastante positivo devido a não concorrência com a produção de alimentos e também pela alta produção de óleo por hectare (FRIGO et al., 2008; REIS et al., 2015). Seu óleo contém altos níveis de ácidos graxos polinsaturados e, portanto, é adequado como combustível (PRAMANIK, 2003; ONG et al., 2011).

A utilização da planta como fonte de matéria-prima para a produção do biodiesel apresenta algumas vantagens em relação às demais culturas oleaginosas. Ribeiro et al. (2015) constataram que a espécie apresentou o melhor desempenho, com menor emissão de gases de efeito estufa para a produção de biodiesel (622,82 kg CO<sub>2</sub>-eq/t), em

comparação com as oleaginosas soja e mamona (3770,00 e 1784,80 kg CO<sub>2</sub>-eq/t, respectivamente) e um balanço energético bastante favorável.

Outras vantagens apresentadas por *J. curcas* quanto à produção de biodiesel são a sua capacidade produtiva que ultrapassa os quarenta anos, começando a produzir a partir do primeiro ano e alcançando o pico de produção aos quatro anos; o cultivo pode ser implantado em áreas degradadas que são impróprias para os cultivos alimentares; é uma planta que possui tolerância às condições adversas de clima e solo, podendo tolerar a seca; apresenta uma produtividade excelente por hectare, em torno de duas mil toneladas; é fácil de cultivar e é perene (MATTOS, 2001; ARRUDA et al., 2004; LAVIOLA e DIAS, 2008; MATSUURA et al., 2010). Dentre as desvantagens temos a toxicidade das sementes para animais e humanos e a possibilidade de utilizar terras apropriadas para culturas agrícolas caso haja necessidade de expandir o plantio para a produção de biodiesel (PARAWIRA, 2010).

Por séculos, diferentes partes da planta tiveram uso medicinal. Não por acaso, o nome da espécie deriva da palavra grega "*jatros*" que significa doutor, e "*trophe*" que significa alimento (KUMAR e SHARMA, 2008; IGBINOSA et al., 2009) e tais propriedades medicinais da planta são devido aos metabólitos secundários produzidos. Muitos estudos foram publicados demonstrando as propriedades farmacológicas da espécie, entre elas estão a ação anti-inflamatória, antioxidante, anti-bacteriana e potencial anticancerígeno correspondente às propriedades de um alcaloide, a jatrofina. Estudos demonstram atividade antiviral de extratos de folhas sobre o vírus da imunodeficiência humana (HIV); atividade anti-inflamatória no processo de cicatrização de feridas da pele de camundongos e ação hemostática (KAUSHIK et al., 2007; SANGEETHA et al., 2009; OSKOUEIAN et al., 2011; DAHAKE et al., 2013; WONGKRAJANG et al., 2015; SALIM et al., 2018).

A planta é amplamente usada na medicina tradicional de países da África, Ásia e América Latina para o tratamento e cura de várias enfermidades, como infecções de pele, diarreia, gonorreia, febre e várias outras doenças causadas por microorganismos. As folhas são usadas para confecção de chás para tratamento de malária e, em estudo realizado por Dada et al. (2014), ficou comprovada a ação antibacteriana do extrato aquoso de folhas sobre coliformes. A seiva leitosa possui propriedades abortivas e pode

ser utilizada para tratar doenças dermatomucosas (OSENI et al., 2007; AWE et al., 2010; MISHRA et al., 2010; KAMBUR, 2012; DADA et al., 2014).

Abdelgadir e Van Staden (2013), em revisão, relataram os principais usos de diferentes partes da planta e uma variedade de aplicações e doenças tratadas de acordo com cada país, dentre elas os problemas gástricos, inflamatórios, doenças sexuais, icterícia, diabetes, disenteria, febre e doenças de pele. Os estudos realizados com os diversos órgãos da planta, assim como com os diferentes extratos produzidos, indicam as propriedades farmacológicas, tais como o potencial antiviral, anti-inflamatório, antimicrobiano, anti-cancerígeno, antidiabético, hepatoprotetor e anticoagulante.

Por ser uma espécie considerada rústica, pode ser utilizada na recuperação de áreas degradadas, na contenção de encostas e dunas, no controle da erosão dos solos, aplicada como cerca viva ao longo de canais, rodovias, ferrovias, nas divisas internas ou nos limites das propriedades. Outra utilidade interessante do óleo de *J. curcas*, muito empregada no passado, é a fabricação de sabão e tintas, assim como, na iluminação de lamparinas e candeeiros através da queima do óleo que não produz cheiro ou fumaça (SATURNINO et al., 2005; DURÃES et al., 2012; LAVIOLA et al., 2015).

O uso da planta para a produção de ração animal e fertilizante deve ser cuidadosamente considerado, porque ela apresenta vários compostos secundários tóxicos, alergênicos e antinutricionais que são prejudiciais aos animais que os consomem, assim como para as plantas que os absorvem através dos adubos aplicados. Portanto, a sua utilização para estes fins exige que a torta proveniente da produção do biodiesel seja destoxificada. Na alimentação animal, o farelo proveniente da torta seria uma alternativa bastante interessante graças ao seu elevado teor de proteína (35%, em média), com variação de 14 a 60% (ABDALLA et al., 2008; MEDEIROS et al., 2015). A partir da casca do fruto pode ser feita compostagem para a produção de adubo orgânico que é rico em nitrogênio, fósforo e potássio (SATO et al., 2009; BARBOSA, 2016).

Outra utilidade da *J. curcas* é no controle alternativo de pragas e doenças de plantas através do uso de seus extratos, os quais apresentam propriedades biocida. O uso de substâncias de origem vegetal no controle de pragas apresenta algumas vantagens, quando comparadas aos inseticidas sintéticos, dentre elas, a baixa persistência e acumulação no ambiente, a seletividade, a biodegradabilidade e a ausência dos

conhecidos efeitos colaterais típicos dos inseticidas convencionais (GIONETTO e CHÁVEZ, 2000). Os seus efeitos, a exemplo de outras substâncias orgânicas com propriedades toxicológicas, podem ocorrer sob diferentes formas. No caso dos insetos, acredita-se que os metabólitos secundários atuem sobre o metabolismo deles, ocasionando inibição alimentar, repelência, ação inibitória ou supressora da oviposição e/ou indução da produção de ovos inférteis, inibição do desenvolvimento de larvas, ninfas e pupas, além da inibição do ato do acasalamento (UNGARO e REGITANO NETO, 2007).

Convém ressaltar que o controle de pragas e doenças é feito atualmente e, na maioria dos casos, com o uso intensivo e indiscriminado de inseticidas e fungicidas sintéticos. Esta estratégia acarreta a seleção de populações resistentes, tornando o controle cada vez mais difícil e menos eficiente. Sendo assim, os produtos naturais extraídos de plantas são fontes potenciais de substâncias bioativas compatíveis com programas de manejo integrado, o que pode reduzir os efeitos colaterais ocasionados pela aplicação de inseticidas e fungicidas organossintéticos no ambiente (MEDEIROS et al., 2005; THULLER et al., 2008; ZOTTI et al., 2010).

#### 2.2 Metabólitos secundários

As plantas são capazes de produzir uma ampla e diversa gama de componentes orgânicos separados em metabólitos primários e secundários. Os primários são responsáveis pelas funções estrutural, plástica e de armazenamento de energia, enquanto os secundários não têm relação com o crescimento e desenvolvimento da planta (TAIZ e ZEIGER, 20013). Os compostos que respondem pela toxicidade da planta são os metabólitos secundários. Tais compostos geralmente apresentam estrutura complexa, têm atividades biológicas marcantes, menor peso molecular e, ao contrário dos metabólitos primários, se encontram em determinados grupos de plantas e em baixas concentrações (BERG e LUBERT, 2008).

J. curcas é uma espécie rica em metabólitos secundários, encontrados em todas as partes da planta. Dentre eles pode-se destacar os diterpenos, sesquiterpenoides e triterpenos, alcaloides, flavonoides, compostos fenólicos, lignanos, neolignanos, cumarinas, cumarino-lignóides, fitoesteróis e proteínas (ABDELGADIR e VAN STADEN, 2013). A presença dessa diversidade de metabólitos representa um grande potencial para utilização dos extratos biocidas no controle de fitopatógenos e insetos que prejudicam a produção agrícola.

Dentre os compostos tóxicos encontrados na planta o diterpeno éster de forbol, presente nas sementes e no óleo (ADOLF et al., 1984; SCHVARSTSMAN, 1997), é considerado o de maior toxicidade. Ele pode provocar toxicidade aguda e/ou crônica, resposta inflamatória intensa, e surgimento de tumores pelo mecanismo de ligação e ativação de enzima quinase C que é responsável pela diferenciação celular e por promover a regulação do crescimento. Na espécie, já foram identificados seis tipos diferentes de ésteres de forbol (HAAS et al., 2002; GOEL et al., 2007; ABDELGADIR e VAN STADEN, 2013; ROMERO, 2013). A concentração desses ésteres de forbol nas sementes varia de 2 a 3 mg/g (PEREIRA et al., 2015). Haas et al. (2002) isolaram seis tipos de ésteres de forbol de *J. curcas* com mesma massa molecular.

# 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta das amostras de Jatropha curcas L.

Foram coletadas amostras de cascas de caule e de folhas referentes a 10 acessos. Tais acessos foram selecionados dentre 121 famílias que pertencem ao Teste de Progênie, instalado na Fazenda Experimental da Universidade Federal de Viçosa (latitude 20° 40' 00.8" S, longitude 42° 31' 05.1" O e altitude de 985 m), em Araponga, MG. Os 10 acessos foram pré-selecionados pela maior produtividade de óleo (CARDOSO, 2014; CARDOSO et al. 2018). Logo após a coleta das amostras, estas foram pesadas e acondicionadas em sacos de papel para serem colocadas em estufa de circulação forçada de ar a 50 °C. As amostras foram mantidas na estufa até estabilização do peso.

#### 3.2 Trituração das amostras

Depois de secos, os órgãos da planta foram triturados em moinho de facas para a obtenção de um pó fino. Cada amostra de folhas foi triturada por cinco minutos e a de cascas do caule por 10 minutos. Após a trituração, os materiais resultantes foram armazenados em vidro âmbar, previamente identificados e mantidas à temperatura ambiente.

#### 3.3 Preparação dos extratos

Para a preparação dos extratos foram utilizados dois tipos diferentes de solventes extratores. O álcool etílico (etanol), que é um solvente polar, foi utilizado para extrair os metabólitos secundários polares, enquanto o clorofórmio, que é um solvente apolar, foi utilizado com o intuito de extrair aqueles compostos secundários apolares. A preparação dos extratos foi feita de maneira exaustiva, empregando-se o método de Soxhlet (AOAC, 2000) de forma sequencial, primeiramente extraindo com o clorofórmio e, posteriormente com álcool etílico 2% (água). Para a preparação do extrato caulinar foram utilizados 40 g de amostra de casca de caule, 270 mL de clorofórmio e 270 mL de etanol. Para a preparação do extrato foliar foram utilizados 20 g de amostra de folhas trituradas, 250 mL de clorofórmio e 250 mL de etanol. Ao final deste processo, cada amostra foi levada ao rotavapor para remoção do solvente utilizado na extração. Logo depois, os extratos foram mantidos em frascos de vidro embalados com papel alumínio

e levados para a câmara de fluxo para que a fase líquida evaporasse e restasse a fase sólida.

Para completar o processo de obtenção dos extratos secos, todas as amostras foram armazenadas em freezer -80 °C, durante 24 horas, e depois encaminhadas para o liofilizador para desidratração total das mesmas. Este processo permitiu a retirada do restante da água e/ou solvente das amostras.

O rendimento dos extratos secos (R) foi calculado de acordo com a massa fresca (MF).

$$R = \frac{ME}{MF} x 100$$

onde:

ME = Massa do extrato seco

#### 3.3.1 Rendimento dos extratos

O rendimento dos extratos vegetais obtidos a partir dos dois solventes extratores (clorofórmio e etanol) foi obtido de acordo com a metodologia descrita por Abad et al. (2006).

O rendimento de extrato foi calculado pela fórmula:

Teor de extrato = (Massa do extrato/Massa da amostra total) x 100

Rendimento de extrato = (% extrato x massa seca total das folhas)/100

#### 3.4 Ensaio antifúngico para Hemileia vastatrix

Para o teste com *H. vastatrix* foi inoculada uma muda de café variedade Caturra, pois o fungo não se desenvolve em meio de cultura. Quando os esporos se desenvolveram, aproximadamente dois meses após a inoculação, foram coletados e diluídos em 1 mL de água com o reagente Tween (Polisorbato 80). Após a diluição, quantificou-se a concentração dos esporos com auxílio de uma câmara de Newbauer. Para o teste com o fungo *Hemileia vastatrix* foram utilizados extratos de casca de caule e de folha. Na preparação dos extratos para os ensaios de *H. vastatrix* foram pesados 50

 $\mu g$  de extrato de casca caule e folha dos 10 acessos e diluídos em 20  $\mu L$  de DMSO e completados com 980  $\mu L$  de água destilada.

A instalação do teste foi feita em caixas plásticas gerbox, cobertas ao fundo com papel toalha umedecido e tela plástica. Sobre a tela foram colocadas duas lâminas e em cada uma delas depositados 15 μL de suspensão dos esporos e mais 15 μL do extrato. Tendo quatro repetições por caixa, em cada lâmina foram depositadas duas gotas de solução. As caixas foram fechadas e embaladas com papel alumínio, simulando um ambiente escuro, e mantidas em BOD a 22 °C. Após um período de seis horas, a germinação foi interrompida com lactofenol, tendo sido colocadas as lamínulas sobre a solução (suspensão de esporos + extrato + lactofenol), os resultados foram observados ao microscópio e foram tiradas as micrografias com o microscópio Olympus BX 53 com as lentes objetivas de aumento de 10 vezes e de 40 vezes.

## 3.5 Ensaio antifúngico para Cercospora coffeicola

Foram realizados isolamentos a partir de folhas de café com sintomas da doença. O crescimento do fungo foi conduzido em placas de Petri de dimensões 90x15 mm com o meio Batata Dextrose Ágar (BDA), previamente autoclavado em Autoclave Vertical modelo 415 (FANEM®) por um período de 20 minutos, e mantido por treze dias em BOD a 25 °C. Para o teste com o fungo C. coffeicola utilizaram-se apenas os extratos preparados com as cascas de caule de J. curcas. Foram pesados 150 mg de extratos de casca de caule de cada um dos 10 acessos de J. curcas, e acrescentados 3 mL de solução aquosa de DMSO 2% em tubos de Falcon de 15 mL. Posteriormente estes foram autoclavados durante 20 minutos para assegurar a eliminação de microoganismos. O ensaio com o fungo foi realizado em placas de Petri de dimensões 60x15 mm, acondicionadas em câmara de fluxo, em triplicata para cada acesso. A seguir foram adicionados 15 mL de meio BDA previamente autoclavado e acrescentados 1 mL de extrato. Quando o meio solidificou foi colocado um disco de 5 mm de BDA contendo o micélio do fungo C. coffeicola sobre ele. As placas foram enroladas em papel filme e acondicionadas em BOD a 25 °C. A avaliação do crescimento micelial foi realizada a cada 24 horas, por um período de 13 dias, após o terceiro dia da instalação do teste. Os dados avaliação do crescimento micelial foram utilizados no cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), conforme descrito por Oliveira (1999):

$$IVCM = \frac{(D \ Da)}{N}$$

Sendo:

D= diâmetro médio atual da colônia

Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior

N= número de dias após a inoculação

#### 3.5.1 Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC)

Medindo-se o diâmetro da colônia fúngica, em dois sentidos opostos, foi avaliado o crescimento da colônia. A partir dessa avaliação determinou-se a percentagem de inibição do crescimento micelial (PIC):

PIC = (diâmetro da testemunha – diâmetro do tratamento) x 100 diâmetro da testemunha

#### 3.7 Análises estatísticas

#### 3.7.1 Análise estatística univariada

Para os dados dos testes relativos à ação dos extratos sobre o fungo *Cercospora coffeicola* foram processadas análises estatísticas de regressão linear simples (DIAS e BARROS, 2009) utilizando o *software* R. Também foram processadas análises de variância (ANOVA), seguidas da aplicação dos testes de Bonferroni para verificar a diferença entre as retas de regressão, contrastando com a testemunha e o DMSO 2%.

#### 3.7.3 Análise estatística multivariada

Para o fungo *Cercospora coffeicola* também foram processadas análises multivariadas tipo *cluster* com a formação de dendrogramas a partir da aplicação do método Ward de variância mínima (DIAS, 1998).

# 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1 Rendimento dos extratos

O rendimento dos extratos foi muito baixo (Tabela 1). Contudo, para todos os dados de folha e de caule, o extrato clorofórmico apresentou maiores rendimentos e, os extratos foliares obtiveram maiores rendimentos que os caulinares. Devido a esse baixo teor extrativo, foi necessário utilizar os valores de 50 µg e 150 mg de amostra para a realização dos testes com *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola*, respectivamente.

**Tabela 1.** Rendimento dos extratos de folhas e de caule referentes aos 10 acessos de *Jatropha curcas* L.

	Rendimento (%)					
Acessos	Famílias	Folha		Caule		
		Clorofórmio	Etanol	Clorofórmio	Etanol	
1	66	0,4435	0,0824	0,0636	0,0400	
2	71	0,2147	0,1629	0,1207	0,0897	
3	76	0,5830	0,5042	0,0842	0,0259	
4	77_1	0,6805	0,4684	0,1118	0,0642	
5	77_2	0,7036	0,4751	0,1392	0,0703	
6	77_3	0,8354	0,4888	0,1385	0,0487	
7	116	0,8564	0,2001	0,0768	0,0433	
8	122_1	0,6403	0,3540	0,1010	0,0712	
9	122_2	0,4644	0,2211	0,0616	0,0343	
10	147	0,4328	0,3072	0,0883	0,0860	

# 4.2 Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC)

A inibição do crescimento micelial do fungo *Cercospora coffeicola* pela aplicação dos extratos está representada em porcentagem. É possível observar que, para os extratos etanólicos, os acessos 1, 2 e 3 tiveram as melhores taxas de inibição de crescimento e, para os extratos clorofórmicos, os acessos que tiveram os melhores resultados foram 7, 8 e 10 (Tabela 2).

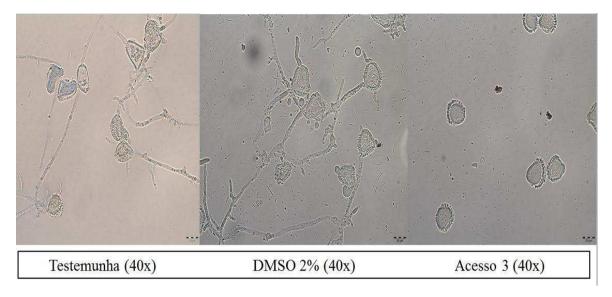
**Tabela 2.** Porcentagem de inibição do crescimento (PIC) micelial de *Cercospora* coffeicola

PIC (%)						
Acessos	Extrato Caulinar Clorofórmico	Extrato Caulinar Etanólico				
1	7,67	20,98				
2	3,58	20,24				
3	7,80	23,40				
4	8,43	16,84				
5	7,64	16,34				
6	7,82	16,45				
7	14,03	15,77				
8	11,92	11,16				
9	6,65	10,26				
10	11,33	14,35				
Média	8,69	16,58				
CV (%)	34,29	24,97				

## 4.3 Ensaio antifúngico para Hemileia vastatrix

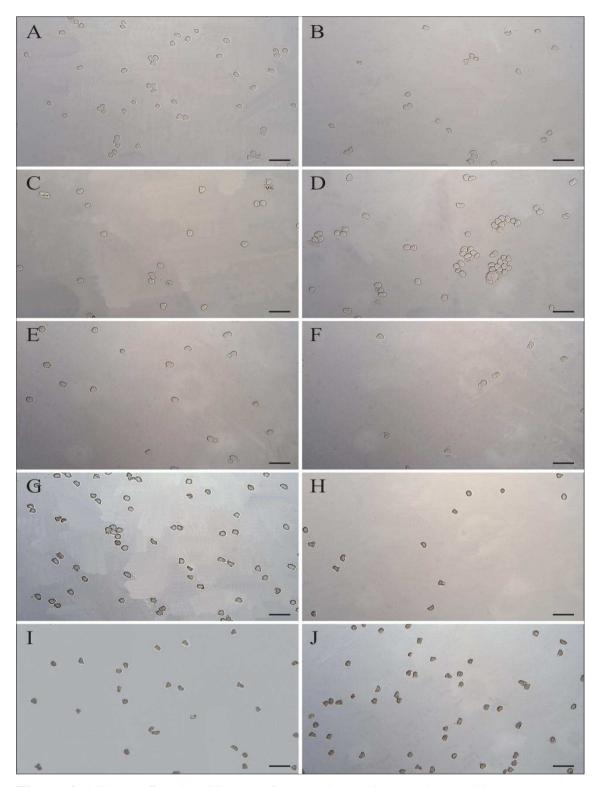
Através dos ensaios realizados com os 10 acessos foi possível demonstrar que, tanto para a casca do caule quanto para a folha e com ambos os solventes extratores (clorofórmio e etanol), a inibição da germinação dos uredósporos de *Hemileia vastatrix* foi efetiva, não permitindo a germinação em nenhum dos extratos selecionados, quando comparado à testemunha (água) e ao DMSO 2%. Este resultado é extremamente interessante visto que *H. vastatatrix* é fungo biotrófico e tais resultados possibilitam e impulsionam testes em outros tipos de ferrugens que afetam cultivos como o do eucalipto, da soja e da goiabeira.

Pode-se observar a germinação dos esporos do fungo *Hemileia vastatrix* no aumento de 40 vezes ao microscópio, nas amostras testemunha (H<sub>2</sub>O) e DMSO 2%, enquanto no extrato relativo ao Acesso 3, por exemplo, não houve germinação (Figura 1).

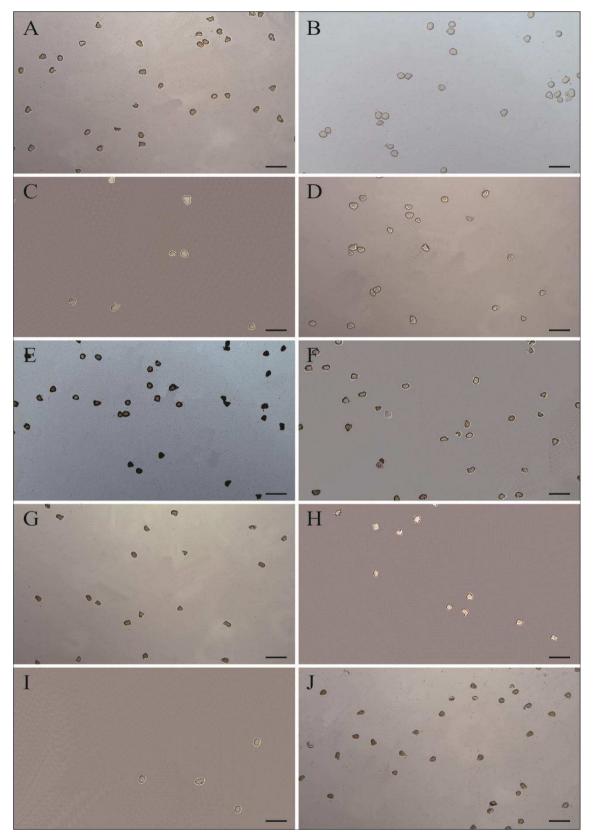


**Figura 1.** Micrografias da germinação dos uredósporos (20 μm) na testemunha e DMSO 2% e não germinação dos uredósporos no extrato referente ao Acesso 3.

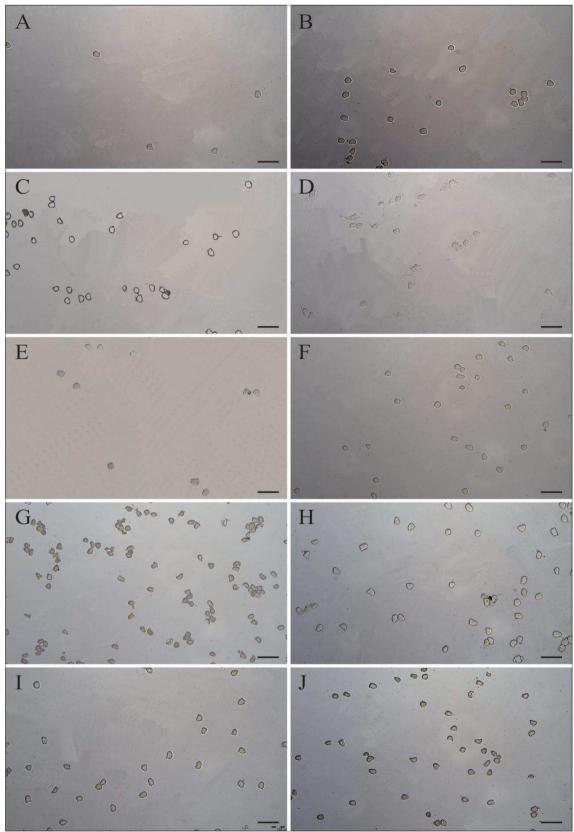
Nas Figuras 2 e 3 são apresentadas as micrografias (aumento de 10 vezes) relativas aos extratos clorofórmicos e etanólicos de casca e pode-se observar que não houve germinação dos uredósporos do fungo, em nenhuma deles. Para os extratos clorofórmicos e etanólicos de folhas verificou-se também que não ocorreu germinação dos uredósporos de *Hemileia vastatrix* em nenhum dos acessos testados, exceto que para o acesso 9 (lâmina I.1) onde houve uma pequena taxa de germinação (Figura 4). A exceção pode ser explicada por uma não cobertura total da lâmina com o extrato sobre os esporos do fungo, já que nas demais partes da lâmina observada ao microscópio, não houve germinação dos esporos. Os esporos do fungo só germinaram na testemunha (H<sub>2</sub>O) e no DMSO 2%, como pode ser visto nas lâminas (Figuras 4 e 5).



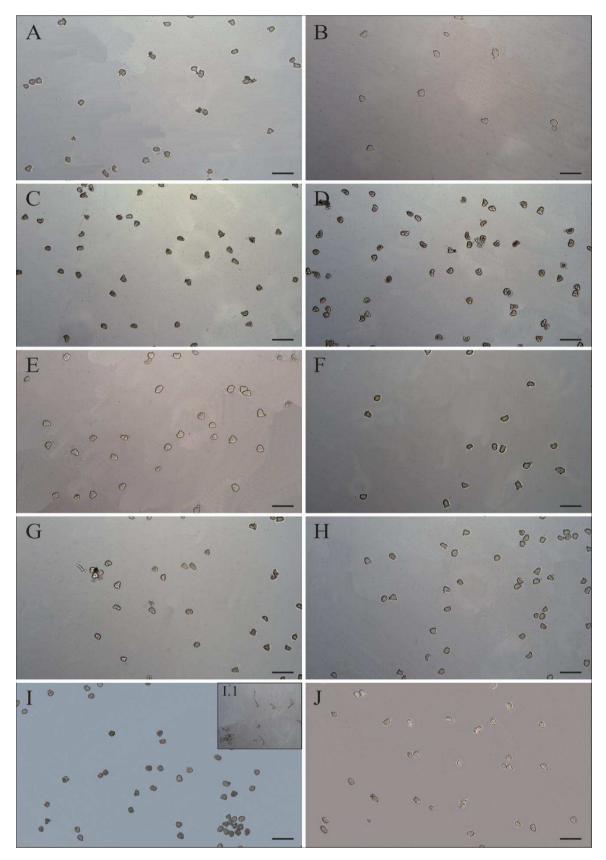
**Figura 2.** Micrografias de 100 μm referentes à germinação dos uredósporos com os extratos clorofórmicos de casca de caule: (A) Acesso 1; (B) Acesso 2; (C) Acesso 3; (D) Acesso 4; (E) Acesso 5; (F) Acesso 6; (G) Acesso 7; (H) Acesso 8; (I) Acesso 9; (J) Acesso 10.



**Figura 3.** Micrografias de 100 μm referentes à germinação dos uredósporos com os extratos etanólicos de casca de caule: (A) Acesso 1; (B) Acesso 2; (C) Acesso 3; (D) Acesso 4; (E) Acesso 5; (F) Acesso 6; (G) Acesso 7; (H) Acesso 8; (I) Acesso 9; (J) Acesso 10.



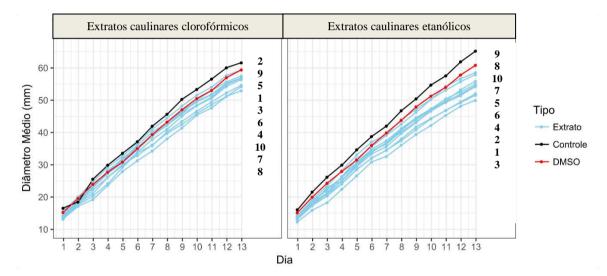
**Figura 4.** Micrografias de 100 μm referentes à germinação dos uredósporos com os extratos clorofórmicos de folha: (A) Acesso 1; (B) Acesso 2; (C) Acesso 3; (D) Acesso 4; (E) Acesso 5; (F) Acesso 6; (G) Acesso 7; (H) Acesso 8; (I) Acesso 9; (J) Acesso 10.



**Figura 5.** Micrografias de 100 μm referentes à germinação dos uredósporos com os extratos etanólicos de folha: (A) Acesso 1; (B) Acesso 2; (C) Acesso 3; (D) Acesso 4; (E) Acesso 5; (F) Acesso 6; (G) Acesso 7; (H) Acesso 8; (I) Acesso 9; (J) Acesso 10.

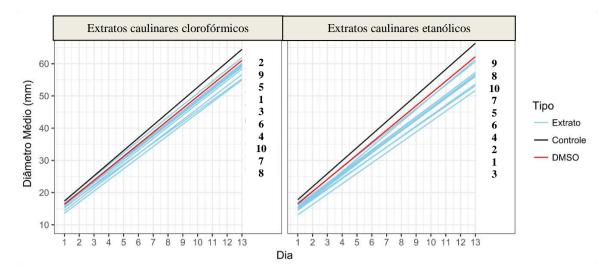
# 4.4 Ensaio antifúngico para Cercospora coffeicola

Para a análise dos dados dos testes com o fungo fitopatogênico *C. coffeicola* foram utilizadas análises univariadas de regressão linear simples e multivariadas de agrupamento. Nos gráficos de crescimento micelial do fungo durante o período de 13 dias as linhas preta e vermelha correspondem, respectivamente, ao controle e ao DMSO 2%, e suas trajetórias demonstram que para tais tratamentos houve maior crescimento micelial do fungo ao longo do tempo, quando comparado aos extratos de casca do caule que estão representados pelas linhas azuis (Figura 6). O ajuste dessas linhas ao modelo de regressão linear simples é apresentado na Figura 7.



**Figura 6.** Diâmetro médio de crescimento micelial de *Cercospora coffeicola* em 12 amostras (10 extratos, um controle e DMSO 2%), no período de 13 dias.

Observou-se que as amostras dos extratos apresentaram comportamentos semelhantes em termos de trajetórias crescentes em linha reta, porém com diferenças entre si (Figura 7). É possível constatar que os extratos etanólicos tiveram desempenho melhor que os extratos clorofórmicos, pois o primeiros discriminaram melhor os acessos, o que pode ser observado a partir dos dados de PIC (Tabela 4).



**Figura 7.** Ajuste das equações de regressão linear para 12 amostras (10 extratos, um controle e DMSO 2%), no período de 13 dias.

Com base na análise de variância da regressão linear simples (Tabela 3), houve diferenças altamente significativas entre os tratamentos e foi possível concluir que um tratamento é melhor que o outro, já que todas as fontes de variação foram significativas. A fonte de variação Tratamento/Solvente, que testa a significância do b<sub>0</sub>, apresentou valores significativos, logo os tratamentos diferem entre si. A fonte de variação (Tratamento x Dia)/Solvente, que testa a significância de b<sub>1</sub>, também apresentou significância e, portanto, a declividade entre os tratamentos difere entre si.

**Tabela 3.** Análise de variância para os coeficientes de regressão relativos a 12 amostras (10 extratos, um controle e DMSO 2%), no período de 13 dias

FV	gl	SQ	QM	F
Solvente	1	171	171	39,1**
Trat/Solvente	22	6558	298	68,3**
Trat/Solvente CHCl <sub>3</sub>	11	2349	214	48,9**
Trat/Solvente ETOH	11	4209	383	87,6**
$(Trat \times Dia)/Solvente$	24	249542	10398	2381,4**
$(Trat \times Dia)/Solvente\ CHCl_3$	12	137502	11458	2624,4**
(Trat × Dia)/Solvente ETOH	12	112041	9337	2138,4**
Erro	1343	5864	4	
Média	37,4	-1		
CV (%)	5,63	3		

<sup>\*\*</sup> Significativo a 1% de probabilidade

O valor de  $b_0$  representa a altura da reta no eixo x e  $b_1$  é a declividade da reta no eixo y. Como o interesse deste trabalho é o potencial fungicida dos extratos, logo, quanto menores os valores de  $b_0$  e  $b_1$ , melhor, porque a reta referente ao extrato estará mais distante das retas do controle (água) e DMSO 2%. Um valor baixo de  $b_0$  deve ser interpretado como impedimento ao crescimento do fungo, enquanto um  $b_1$  baixo evidencia a redução do crescimento micelial ao longo do tempo.

Dois extratos se mostraram mais eficientes que os demais, pois apresentaram valores inferiores tanto para b<sub>0</sub>, quanto para b<sub>1</sub>, no caso o extrato etanólico do acesso 3, e o clorofórmico do acesso 8 (Tabela 4). Ambos se mostraram mais tóxicos ao fungo *C. coffeicola* e suas retas de regressão linear estão mais afastadas das retas do controle e do DMSO 2%.

**Tabela 4.** Coeficientes da regressão linear relativos a amostras de extratos (10 extratos, um controle e DMSO 2%), em solventes clorofórmicos (ECC) e etanólicos (ECE)

	EC	CC		EC	E	
Acessos	bo	b1	$\mathbb{R}^2$	bo	b1	$\mathbb{R}^2$
7	12,165*	3,315*	0,9917	12,700*	3,425*	0,9913
8	10,118*	3,452*	0,9983	13,235*	3,649*	0,9882
9	12,492*	3,663*	0,9920	11,189*	3,850*	0,9931
10	10,874*	3,522*	0,9935	12,163*	3,470*	0,9956
1	12,313*	3,592*	0,9927	11,807*	3,181*	0,9955
2	13,883*	3,696*	0,9930	11,289*	3,260*	0,9944
3	12,409*	3,615*	0,9913	9,888*	3,215*	0,9950
4	11,603*	3,598*	0,9955	11,985*	3,388*	0,9942
5	12,949*	3,580*	0,9925	11,587*	3,446*	0,9919
6	13,075*	3,590*	0,9873	11,842*	3,448*	0,9916
Controle	13,432*	3,925*	0,9921	13,752*	4,044*	0,9978
DMSO	12,657*	3,720*	0,9972	12,715*	3,805*	0,9975
Geral	12,331*	3,606*	0,9744	12,013*	3,515*	0,9537

<sup>\*</sup> Significativo a 5% de probabilidade; R<sup>2</sup> é o coeficiente de determinação.

É possível observar, com base nas taxas de crescimento micelial, que para o controle e o DMSO 2% o fungo se desenvolveu normalmente no meio de cultura. Entretanto, para os extratos 3 (etanol) e 8 (clorofórmio) fica nítida a diminuição no desenvolvimento micelial (Figura 8).

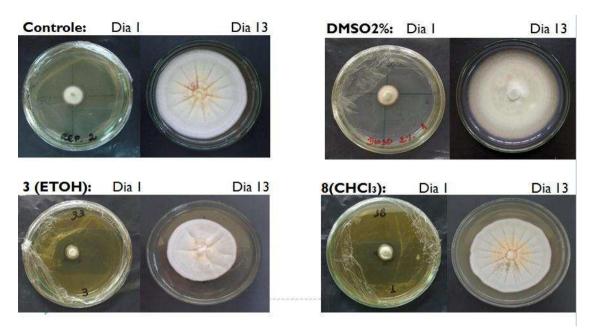


Figura 8. Crescimento micelial de Cercospora coffeicola

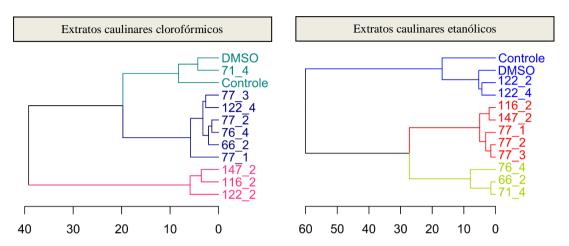
Na Tabela 5 estão representados os valores dos testes de comparação entre as retas de regressão. No caso, foi avaliado se uma reta de regressão difere de outra e a referência de comparação foi os dois controles (testemunha e DMSO 2%). Caso seja significativo, representa que determinado tratamento difere do controle. Neste caso, podemos observar que todos os acessos testados foram diferentes entre si e do controle testemunha, contudo, para o DMSO 2%, alguns dos acessos não diferiram entre si.

**Tabela 5.** Teste de identidade de modelos contrastando os extratos com o controle e o DMSO, e os p-valores das análises ajustadas para múltiplos testes utilizando a correção de Bonferroni

Acessos	Extratos Caulina	res Clorofórmicos	Extratos Caulinares Etanólicos		
ACCSSUS	Controle	DMSO 2%	Controle	DMSO 2%	
7	4,34E-50*	1,25E-15*	2,28E-70*	3,90E-23*	
8	3,96E-119*	1,11E-47*	6,37E-32*	7,47E-02	
9	1,22E-06*	9,99E-01	6,32E-36*	4,88E-05*	
10	2,18E-47*	1,66E-13*	3,60E-81*	1,62E-30*	
1	6,16E-14*	3,01E-01	1,25E-207*	1,68E-169*	
2	2,60E-04*	6,29E-02	7,43E-131*	1,29E-69*	
3	3,31E-19*	2,61E-01	6,37E-281*	1,06E-258*	
4	2,73E-33*	9,32E-06*	1,43E-74*	4,28E-31*	
5	1,37E-19*	5,63E-01	6,69E-92*	3,83E-45*	
6	1,70E-17*	9,99E-01	1,44E-59*	2,60E-22*	
Controle	_	1,03E-08*	_	1,49E-30*	
DMSO 2%	1,03E-08*	_	1,49E-30*	_	

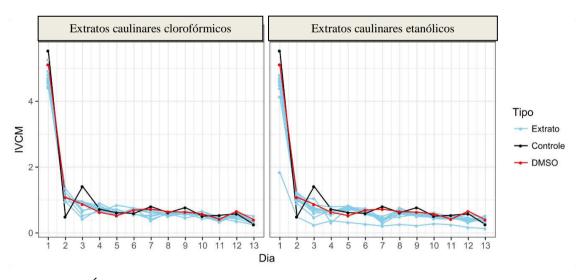
<sup>\*</sup> Significativo a 5% de probabilidade.

A análise de cluster (Figura 9) possibilitou o agrupamento das amostras dos extratos de acordo com a similaridade. Aquelas que se agruparam no mesmo cluster do controle e do DMSO 2% foram consideradas pouco efetivas no quesito contenção do crescimento do fungo, ou seja, são menos tóxicas e permitem que o fitopatógeno se desenvolva normalmente. Por outro lado, as amostras agrupadas em distintos e mais distantes do controle e do DMSO 2% possuem extratos mais tóxicos ao fungo.



**Figura 9.** Dendrograma pelo método de Ward aplicado à matriz de distâncias euclidianas estimadas entre as médias de tratamentos obtidas no período de 13 dias.

Na Figura 10 tem-se o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM) ao longo dos 13 dias de avaliações. O pico de crescimento do primeiro para o segundo dia de medição se explica porque as avaliações foram iniciadas após três dias da instalação do experimento. O comportamento do fungo se mostrou semelhante para todos os extratos caulinares, incluindo o controle e o DMSO 2% e tal semelhança fica mais evidente para o solvente clorofórmio, quando comparado a etanol.



**Figura 10.** Índice de velocidade de crescimento micelial de *Cercospora coffeicola* avaliado a partir da aplicação de 10 extratos obtidos de casca de caule de *Jatropha curcas* L. e elaborados em solventes clorofórmico (CHCl<sub>3</sub>) e etanólico (ETOH), além do controle e do DMSO 2%.

Na literatura consultada não foram encontrados relatos sobre o efeito fungicida de extratos de *J. curcas* sobre os fungos *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola*, demonstrando a importância deste estudo no controle desses fitopatógenos. Esse fato estimula pesquisas futuras quanto ao isolamento dessas moléculas biocidas presentes em *J. curcas*, na busca de um fungicida botânico que possa ser registrado para a cultura do cafeeiro. Entretanto, alguns estudos foram realizados com extratos de *J. curcas* em outras espécies vegetais no controle de outros fungos fitopatógenos.

Os extratos etanólico e clorofórmico, elaborados a partir dos 10 acessos de *J. curcas*, reduziram o crescimento de *Cercospora coffeicola* em 16,57% e 8,69%, respectivamente, se comparado ao crescimento do controle no 13º dia de avaliação. Em pesquisa semelhante realizada por Silva et al. (2014), testando extratos de diferentes espécies vegetais no controle da *C. coffeicola*, foi relatada redução do crescimento micelial de 64,48%, quando foram utilizados extratos de *Allium sativum L., Vernonia polysphaera* Baker e *Syzygium aromaticum* Perry. Já Chalfoun et al. (2009) observaram redução de 5,05% no crescimento micelial de *C. coffeicola*, quando foram aplicados 10 µL de extrato metanólico de *Curcuma longa*.

Na presente pesquisa foram utilizados dois tipos de órgãos vegetais para a realização dos testes. A casca de caule foi utilizada tanto para o ensaio de *Hemileia vastatrix*, demonstrando efetiva inibição na germinação dos esporos do fungo, quanto para *Cercospora coffeicola*, inibindo o desenvolvimento micelial. Extrato de folha foi administrado apenas para os testes com *H. vastatrix*, mostrando, da mesma maneira, controle da germinação dos esporos. Trabalhando com o mesmo órgão vegetal, óleo e extrato da folha, Ahirwar et al. (2015) obtiveram resultados promissores com máxima zona de inibição de crescimento micelial para o fungo *Aspergillus niger*.

Apesar de não terem sido realizados testes com outras partes da planta, todos os órgãos de *J. curcas* apresentam toxicidade e, para testar tal efeito, Ingle et al. (2017) exploraram raízes, folhas, cascas e sementes através de extratos metanólicos no controle de fungos fitopatogênicos. O extrato bruto da raiz teve melhor atividade antifúngica (até 23,1% de inibição do crescimento) contra *Rhizoctonia*. O extrato de raiz, quando fracionado por cromatografia em coluna, mostrou 72,72% de inibição de crescimento contra *Fusarium udum* e 41,17% contra *Rhizoctonia bataticola*. Tais resultados

concordam com aqueles encontrados na presente pesquisa porque mostram que extratos de *J. curcas* limitam o crescimento do fungo sem contudo causar mortalidade.

Nenhum dos extratos foi capaz de inibir totalmente o crescimento de *C. coffeicola*. O que foi possível observar foi a inibição no crescimento micelial quando comparado às testemunhas. Testando o óleo de *J. curcas* extraído a partir do éter de petróleo sobre o fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*, Cordova-Albores et al. (2016) constataram que os extratos também foram capazes de causar alterações na morfologia do revestimento interno do micélio e dos conídios e inibir a atividade metabólica da membrana no fungo. Em outro trabalho, Cordova-Albores et al. (2014) testaram o efeito fungicida do óleo de *J. curcas* sobre *Fusarium oxysporum*, *F. solani* e *F. proliferatum* e concluíram que todas as espécies foram sensíveis à concentração de 5 mg.mL<sup>-1</sup> de óleo.

O extrato etanólico afetou o crescimento das duas espécies de fungos testadas, apresentando inclusive, melhor resultado com relação à toxicidade, o que é interessante do ponto de vista do produtor, uma vez que a preparação de extrato etanólico é mais fácil e viável que a do clorofórmio. Os resultados encontrados podem ser relacionados com relatos anteriores de Saetae e Suntornsuk (2010) que similarmente testaram extrato etanólico da torta de sementes de *J. curcas* e descobriram atividade antifúngica contra importantes fitopatógenos como: *Fusarium oxysporum, Pythium aphanidermatum, Lasiodiplodia theobromae, Curvularia lunata, F. semitectum, Colletotrichum capsici* e *C. gloeosporiodes.* 

Diferente das pesquisas anteriores, Thangavelu et al. (2004) testaram outro tipo de solvente na preparação de seus extratos, como o extrato aquoso foliar de *J. curcas* para tentar controlar o fungo causador da antracnose na bananeira, *Colletotrichum musae*. Do mesmo modo, conseguiram constatar inibição do crescimento micelial. Li et al. (2006) encontraram resultado semelhante para o fungo *Colletotrichum gloeosporiodes*.

Todos os 10 extratos testados aqui para o fungo *Hemileia vastatrix* mostraram-se eficientes no controle da germinação dos esporos, em consonância com Silva et al. (2014) os quais obtiveram eficiência quando testaram extratos de *Allium sativum* e *Syzygium aromaticum*. Caetano et al. (2017), trabalhando com extratos de óleo essencial de *Eucalyptus microcorys* no controle de *H. vastatrix*, evidenciaram que a partir da

concentração de 250 ppm do óleo essencial, ocorreu inibição da germinação de esporos em 79,5%.

Outro extrato vegetal que é muito utilizado no controle alternativo de doenças é o de Neem (*Azadirachta indica*). Duarte et al. (2018) relataram que o extrato etanólico de folhas de Neem mostrou-se eficaz na inibição da germinação dos esporos da ferrugem, variando de 43,5% de inibição na concentração mais baixa (1%) a 67,78% de inibição na concentração mais elevada (4%). Resultado diferente foi encontrado por Cordova-Albores et al. (2014), onde ocorreu germinação dos esporos dos fungos *Fusarium* spp. quando tratados com óleo de *J. curcas*. A susceptibilidade ao tratamento dependeu do isolado.

Ao testar o efeito da curcina, outro metabólito secundário presente em *J. curcas*, sobre os fungos *Magnaporthe grisea*, *Pestalotia funerea*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotinia sclerotiorum*, Wei et al. (2004) obtiveram resultados equivalentes aos do presente trabalho na inibição da germinação dos esporos dos fungos e do crescimento micelial. Com a dose de 5 μg.mL<sup>-1</sup> houve significativa inibição do crescimento do micélio fúngico e da germinação de esporos. Quando a concentração foi aumentada para 50 μg.mL<sup>-1</sup> a taxa de inibição de *P. funerea* chegou a 83,8%.

Em vista dos resultados obtidos na presente pesquisa e nas demais já publicadas a respeito do efeito fungicida de *J. curcas* pode-se afirmar que a espécie apresenta um cenário bastante positivo porque o seu uso como biocida botânico permitirá um controle mais sustentável das doenças que afetam as culturas agrícolas, sem efeito nocivo ao meio-ambiente e aos seres humanos. E, como perspectivas futuras para dar continuidade à pesquisa, pretende-se isolar a molécula responsável pelo efeito fungicida/fungistático e testar os extratos em indivíduos no campo (*in vivo*).

## 5. CONCLUSÕES

- 1. Os 10 extratos de casca de caule e folha de *Jatropha curcas* L. extraídos em solventes etanólico e clorofórmico se mostraram eficientes no controle do fungo *Hemileia vastatrix*, causador da ferrugem do cafeeiro.
- 2. Nos testes com *Cercospora coffeicola*, os extratos caulinares do acesso 3 em etanol e do acesso 8 em clorofórmio se mostraram mais eficientes que os demais na inibição do desenvolvimento do fungo.

3. O extrato caulinar etanólico se mostrou mais tóxico que o clorofórmico nos ensaios com o fungo *Cercospora coffeicola*.

## 6. REFERÊNCIAS

ABAD, M. J.; BESSA, A. L.; BALLARIM, B.; ARAGÓN, O.; GONZALES, E.; BERMEJO, P. Antiinflammatory activity of for Bolivian *Baccharis* species (Compositae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.103, p.338-349, 2006.

ABDALLA, A. L.; SILVA FILHO, J. C.; GODÓI, A. R.; CARMO, C. A.; EDUARDO, J. L. P. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, p.260-258, 2008.

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.

ABIC – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. **O café brasileiro na atualidade**. 2017. Disponível em: <a href="http://abic.com.br/cafe-com/historia/">http://abic.com.br/cafe-com/historia/</a>>. Acesso em: 16 out. 2017.

ADOLF, W.; OPFERKUCH, H. J.; HECKER, E. Irritant phorbol derivatives from four *Jatropha* species. **Phytochemistry**, v.23, n.1, p.129-132, 1984.

AHIRWAR, R. K.; AHIRWAR, S.; PANDEYA, J. P. N.; MISHRA, A. S.; KUMAR, K. S. 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.

AKASHI, K. *Jatropha* research: A new frontier for biofuel development. **Plant Biotechnology**, v.29, p.121, 2012.

ALMEIDA, T. F.; CAMARGO, M.; PANIZZI, R. C. Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro. **Summa Phytopathologica**, v.35, n.3, p.196-201, 2009.

ALONSO-CASTRO, A. J.; VILLARREAL, M. L.; SALAZAR-OLIVO, L. A.; GOMEZ-SANCHEZ, M.; DOMINGUEZ, F.; GARCIA-CARRANCA, A. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. **Journal of Ethnopharmacology**, v.133, p.945-972, 2011.

ANP. **Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis**. Brasília, DF, Disponível em: < http://www.anp.gov.br/?pg=60983 >. Acesso em: 12 Mar 2018.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 13 ed., Arlington, 2000.

ARRUDA, F.P.; BELTRÃO, N.E.M.B.; ANDRADE, A.P.; PEREIRA, W.E.; SEVERINO, L.S. Cultivo de pinhão manso (*Jatropha curca L.*) como alternativa para o semi-árido nordestino. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v.8, n.1, p.789-799, 2004.

AWE, A. B.; BAIYEWU, R. A.; FATADE, B. O.; ADELEKE, T. O. ONYEKWELU, J.; ADEKUNLE, V. A. J.; OKE, D. O., editors. Phyto-chemical and antimicrobial evaluation of the leaves of *Jatropha curcas*. **Proceedings of the 2nd biennial National Conference of the Forests and Forest Products Society held at the Federal University of Technology**, 26 a 29 de abril de 2010, p.445-449, Nigéria, 2010.

BARBOSA, R. A. F. Caracterização de produtos e subprodutos de pinhão manso submetido à irrigação e adubação potássica. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Goiás, 2016.

BERG, J. M. T.; LUBERT, J. **Bioquímica**. 6 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 545p., 2008.

BRASILEIRO, B. G.; DIAS, D. C. F. S.; BHERING, M. C.; DIAS, L. A. S. 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.

BRASILEIRO, B. P.; SILVA, S. A.; SOUZA, D. R.; SANTOS, P. A.; OLIVEIRA, R. S.; LYRA, D. H. Genetic diversity and selection gain in the physic nut (*Jatropha curcas*). **Genetics and Molecular Research**, v.12, n.3, p.2341-2350, 2013.

CAB INTERNATIONAL. Compêndio de espécies invasoras do CAB International. 2013. Disponível em: <a href="http://www.cabi.org/isc/datasheet/28393">http://www.cabi.org/isc/datasheet/28393</a>. Acesso em: 16 de maio de 2018.

CAETANO, A. R. S.; CARDOSO, M. G.; RESENDE, M. L. V.; ANGÉLICO, C. L.; CHALFOUN, S. M.; SILVA, J. A. G. Atividade antifúngica do óleo essencial de

*Eucalyptus microcorys* sobre *Hemileia vastatrix*. Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Poços de Caldas-MG, **Anais**, 2017.

CARDOSO, P. M. R. Controle genético de caracteres e seleção em Jatropha curcas L. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia da Universidade Federal de Vicosa, Vicosa, 2014.

CARDOSO, P. M. R.; DIAS, L. A. S.; RESENDE, M. D. V.; FREITAS, R. G.; CORRÊA, T. R.; MUNIZ D. R.; ZAIDAN, I. R. Genetic evaluation and selection in *Jatropha curcas* L. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.18, n.2, p.192-199, 2018.

CARVALHO, A. M.; CARDOSO, D. A.; CARVALHO, G. R.; CARVALHO, V. L.; PEREIRA, A. A.; FERREIRA, A. D.; CARNEIRO, L. F. Comportamento de cultivares de cafeeiro sob a incidência das doenças da ferrugem e cercoporiose em dois ambientes de cultivo. **Coffee Science**, v.12, n.1, p.100-107, 2017.

CECAFÉ - Conselho dos Exportadores de café do Brasil. Tudo sobre a safra 2011-2012. São Paulo: CECAFÉ, 2012, 60p.

CHALFOUN, S. M.; OLIVEIRA, D. F.; SOUZA, L. P.; BOTELHO, D. M. S.; PEREIRA, M. C.; MACIEL, W. M.; CARVALHO, D. A. Seleção de extratos vegetais no controle da cercosporiose do cafeeiro. Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil Vitória-ES, **Anais**, 2009.

CORDOVA-ALBORES, L. C.; BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERRERA, J. M.; NECHA, L. B.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; HERNÁNDEZ, A. C. 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.

CORDOVA-ALBORES, L. C.; ZAPOTITLA, E. S.; RÍOS M. Y.; BARRERA-NECHA L. L.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ M.; BAUTISTA-BAÑOS, S. 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.

DADA, E. O.; EKUNDAYO, F. O.; MAKANJOULA, O. O. Antibacterial activities of *Jatropha curcas* Linn. on coliforms isolated from surface waters in Akure, Nigeria. **International Journal of Biomedical Science**, v.10, n.1, p.25-30, 2014.

DAHAKE, R.; ROY, S.; PATIL, D.; RAJOPADHYE, S.; CHOWDHARY, A.; DESMUKH, R. A. Potential anti-HIV activity of *Jatropha curcas* Linn. leaf exctracts. **Journal Antiviral Antiretroviral,** v.5, n.7, p.160-165, 2013.

DEBNATH, M.; BISEN, 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.

DEVAPPA, R. K.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *Jatropha* diterpenes - a review. **Journal of American Oil Chemistry Society**, v.88, p.301-322, 2011.

DEVAPPA, R. K.; MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. *Jatropha* toxicity - a review. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, Part B, v.13, p.476-507, 2010.

DIAS, L. A. S. Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microrganismos. In Alfenas AC (ed). Análises multidimensionais. Viçosa: Editora UFV, p.405-475, 1998.

DIAS, L. A. S.; BARROS, W. S. **Biometria experimental**. Viçosa, MG: Suprema, 2009. 408p.

DIAS, L. A. S. Biofuel plant species and the contribution of genetic improvement. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.11, n.S, p.16-26, 2011.

DIAS, L. A. S.; LEME, L. P.; LAVIOLA, B. G.; PALLINI, A.; PEREIRA, O. L.; CARVALHO, M.; MANFIO, C. E.; SANTOS, A. S.; SOUSA, L. C. A.; OLIVEIRA, T. S.; DIAS, D. C. F. S. Cultivo de pinhão-manso (*Jatropha curcas L.*) para produção de óleo combustível. Viçosa, MG: LAS Dias, 2007, 40p.

DIAS, L. A. S.; MISSIO, R. F.; DIAS, D. C. F. S. 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.

DUARTE, D.; OLIVEIRA, M.; SANTANA, K.; IOST, R. Avaliação de germinação de esporos de *Hemileia vastatrix*, utilizando extrato etanólico de folhas de Nin

(*Azadirachta indica*). **XLI Congresso Paulista de Fitopatologia**. 20 a 22 de fevereiro de 2018, Marília-SP, 2018.

DURÃES, F. O. M.; LAVIOLA, B. G.; ALVES, A. A. Potential and challenges in making physic nut (*Jatropha curcas* L.) a viable biofuel crop: the Brazilian perspective. **CAB Reviews**, v.7, n.43, p.1-8, 2012.

FARIA, D. S.; UEBEL, J.; LEMOS, M.; J. FILHO, M. Eficiência de dois programas da Adama no controle das principais doenças do cafeeiro na região da Alta Mogiana. **43º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**, Poços de Caldas-MG, 2017.

FREITAS, R. G. Avaliação e seleção de genótipos de *Jatropha curcas* L. Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento da à Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2015.

FRIGO, M. S.; BUENO, O. C.; ESPERANCINI, M. S. T.; FRIGO, E. P.; KLAR, A. E. Análise energética do primeiro ano de cultivo do pinhão manso em sistema irrigado por gotejamento. **Irriga**, v.13, n.2, p.261-271, 2008.

GIONETTO, F.; CHÁVEZ, E.C. Desarrollo actual de las investigaciones alelopáticas de la producción, de insecticidas botánicos en Michoacán (México). **Simpósio Nacional sobre Substáncias Vegetales y Minerales em el Combate de Plagas**. Acapulco. Resumos, p.123-134, 2000.

GOEL, G.; MAKKAR, H. P. S.; FRANCIS, G.; BECKER, K. Phorbol esters: structure, biological activity, and toxicity an animals. **International Journal of Toxicology,** v.26, p.279-288, 2007.

HAAS, W.; STERK, H.; MITTELBACH, M. Novel 12- deoxy-16-hydroxyphorbol diesters isolated from the seed oil of *Jatropha curcas*. **Journal of Natural Product**s, v.65, n.10, p.1434-1440, 2002.

HELLER, J. Physic nut (*Jatropha curcas* L.): promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. Roma: International Plant Genetic Resources Institute, 1996. 66p.

IGBINOSA, O. O.; IGBINOSA, E. O.; AIYEGORO, O. A. Antimicrobial activity and phytochemical screening of stem bark extracts from *Jatropha curcas* (Linn). **African Journal Pharmacy Pharmacology**, v.3, n.2, p.58-62, 2009.

INGLE, K. P.; DESHMUKH, A. G.; PADOLE, D. A.; DUDHARE, M. S.; MOHARIL, M. P.; KHELURKAR, V. C. 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.

JAISWAL, V. Culture and ethnobotany of Jaintia tribal community of Meghalaya, Northeast India - a mini review. **Indian Journal of Traditional Knowledge**, v.9, p. 38-44, 2010.

JAYAKUMAR, G.; AJITHABAI, M. D.; SREEDEVI, S.; VISWANATHAN, P. K.; REMESHKUMAR, B. Ethnobotanical survey of the plants used in treatment of diabetes. **Indian Journal of Traditional Knowledge**, v.9, p.100-104, 2010.

JONGSCHAAP, R. E. E.; CORRÉ, W. J.; BINDRABAN, P. S.; BRANDENBURG, W. A. Claims and facts on *Jatropha curcas* L.: global *Jatropha curcas* evaluation, breeding and propagation programme. Plant Research International B, Wageningen, 2007, 66p.

JUHÁSZ, A. C. P.; PIMENTA, S.; SOARES, B. O.; MORAIS, D. L. B.; RABELLO, H. O. Biologia floral e polinização artificial de pinhão-manso no norte de Minas Gerais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.44, n.9, p.1073-1077, 2009.

KAUSHIK, N.; KASHA, K.; SUSHI, K.; TOY, S. Genetic variability and divergence studies in seed traits and oil content of Jatropha (*Jatropha curcas* L.) accessions. **Biomass and Energy**, v.31, p.497-502, 2007.

KAMBUR, K. Elements de phytothérapie comparée. Plantes Médicinales Africaines Centres de Recherches Pédagogiques Kinshasa, 105. *In vitro* Antibacterial Activity and Phytochemical Screening of Crude Extracts from *Jatropha curcas* Linn. **European Journal of Medicinal Plants**, v.2, n.3, p.242-251, 2012.

KRUPINSKA, K.; HUMBECK, K. Senescence processes and their regulation. **Plant Biology**, v.10, p.1-3, 2008.

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, p.1-10, 2008.

LAVIOLA, B. G.; ALVES, A. A.; KOBAYASHI, A. K.; FORMIGHIERI, E. F. Pinhão manso na Embrapa Agroenergia. **Comunicado Técnico**, 12. Embrapa Agroenergia, 2015.

LAVIOLA, B. G.; DIAS, L. A. S. Teor e acúmulo de nutrientes em folhas e frutos de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.32, n.5, p.1969-1975, 2008.

LI, H. Y.; WANG, L.; ZHAO, Z. W. Study on endophytic fungi of *Jatropha curcas* Linn. and their antifungal activity. **Natural Product Research Development**, v.18, p.78-80, 2006.

MACIEL, M. A. M.; PINTO, A. C. V. F.; VEIGA-JUNIOR, N. F.; GRYNBERG, A. Echevarria. Plantas Medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, n.3, p.429-43, 2002.

MATIELLO, J. B.; DIAS, J. R.; FRANCO, L. Produtividade e custos na produção de café orgânico em região de altitude elevada no Sul de Minas. Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras, Poços de Caldas-MG, 2017.

MATOS, F. S.; OLIVEIRA, L. R.; FREITAS, R. G.; EVARISTO, A. B.; MISSIO, R. B.; CANO, M. A. O.; DIAS, L. A. S. Physiological characterization of leaf senescence of *Jatropha curcas* L. populations. **Biomass and Bioenergy**, doi:10.1016/j.biombioe.2012.05.012, 2012.

MATSUURA, M. I. S. F.; SILVA, G. A.; KULAY, L. A.; LAVIOLA, B. G. Inventário do ciclo de vida do pinhão manso destinado à produção de biodiesel. In: Congresso brasileiro em gestão de ciclo de vida em produtos e serviços 2., **Anais.** Florianópolis, 2010.

MATTOS, L.B.R. A importância do setor de transportes na emissão de Gases do Efeito Estufa - o caso do município do Rio de Janeiro. Dissertação apresentada ao Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-Graduação e Pesquisa de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2001.

MEDEIROS, C. A. M.; BOIÇA JUNIOR, A. L.; TORRES, A. L. T. Efeito de extratos aquosos de plantas na oviposição da traça-das-crucíferas, em couve. **Bragantia**, v.64, n.4, p.227-232, 2005.

MEDEIROS, F. F.; SILVA, A. M. A.; CARNEIRO, H.; ARAÚJO, D. R. C.; MORAIS, R. K. O.; MOREIRA, M. N.; BEZERRA, L. R. Fontes proteicas alternativas oriundas da cadeia produtiva do biodiesel para alimentação de ruminantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.67, n.2, p.519-526, 2015.

MISHRA, S.; VIJAYAKUMAR, M.; OJHA, S.; VERMA, A. Antidiabetic effect of *Jatropha curcas* L. leaves extract in normal and alloxan-induced diabetic rats. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v.2, n.1, p.482-487, 2010.

MOURA, W. M.; LIMA, P. C.; FERREIRA, P. H. S.; PEREIRA, K. C.; ALMEIDA, C. H. S.; GONÇALVES, D. R.; BRITO, S. S.; FREITAS, M. A.; VERDIN, A. C. Avaliação se clones de café conilon em cultivo orgânico na Zona da Mata Mineira. **IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, 24 a 26 de junho de 2015, Curitiba – PR.

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, p.9-13, 2010.

OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.). Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Fitossanidade à Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1999.

ONG, H.; MAHLIA, T.; MASJUKI, H.; NORHASYIMA, R. Comparison of palm oil, *Jatropha curcas* and *Calophyllum inophyllum* for biodiesel: a review. **Renewable** and Sustainable Energy Reviews, v.15, p.3501-3515, 2011.

OSKOUEIAN, E; ABDULLAH, N.; SAAD, W. Z.; OMAR, A. R.; AHMAD, S.; KUAN, W. B.; ZOLKIFLI, N. A.; HENDRA, R.; HO, Y. W. Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.5, n.1, p.49-57, 2011.

OSENI, O. A; AKINDAHUNSI, A. A.; ACHTEN, W. M. J., MATHIJS, E., VERCHOT, L.; SINGH, V. P.; FRANKEN, Y. J. The useful plants of west tropical Africa (Families EJ). **American Journal of Food Technology**, v.6, n.2, p.283-291, 2007.

PANDEY, V. C.; SINGH, K.; SINGH, J. S.; KUMAR, A.; SINGH, B; SINGH, R. P. *Jatropha curcas*: A potential biofuel plant for sustainable environmental development. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.16, p.2870-2883, 2012.

PARAWIRA, W. Biodiesel production from Jatropha curcas: A review. **Scientific Research and Essays**, v.5, n.14, p.1796-1808, 2010.

PEIXOTO, A. R. Plantas oleaginosas arbóreas. São Paulo: Nobel, 1973, 284p.

PEREIRA, C S. S.; PESSOA, F. L. P.; RIBEIRO, J. A. A.; MENDONÇA, S.; MENDES, M. F. Extração supercrítica dos ésteres de forbol da torta de *Jatropha curcas*: avaliação preliminar do uso do etanol como co-solvente. **Revista Eletrônica Teccen**, v.8, n.2, p.37-43, 2015

PESSOA, Â. M. S.; SANTOS, Â. G.; RIBEIRO, M. L. F.; SILVA-MANN, R. Influência da maturação de frutos na germinação, vigor e teor de óleo de sementes de *Jatropha curcas* L. **Scientia Plena**, v.8, n.7, p.1-11, 2012.

PRADO, A. L.; FONSECA, M. C. M.; GONÇALVES, M. G.; LEHNER, M. S.; PAULA-JÚNIOR, T. J.; SILVA, A. F. Atividade antifúngica de óleos essenciais e extratos vegetais sobre fungos fitopatogênicos. **Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica**, Belo Horizonte, 2013.

PRAMANIK, K. Properties and use of *Jatropha curcas* oil and diesel fuel blends in compression ignition engine. **Renewable Energy**, v.28, p.239-248, 2003.

PUA, F-1.; FANG, Z.; ZAKARIA, S.; GUO, F.; CHIA, C-h. Direct production of biodiesel from high-acid value *Jatropha* oil with solid acid catalyst derived from lignin. **Biotechnology Biofuels**, v.4, p.1-8, 2011.

REIS, M. V. M.; DAMASCENO JÚNIOR, P. C.; CAMPOS, T. O.; DIEGUES, I. P.; FEITAS, S. C. Variabilidade genética e associação entre caracteres em germoplasma de

pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Revista Ciência Agronômica**, v.46, p.412-420, 2015.

RIBEIRO, L. F.; BEDENDO, I. P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* - agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, v.56, n.4, p.1267-1271, 1999.

RIBEIRO, D. O.; SILVA-MANN, R.; CARVALHO, S. V. Á; SOUZA, E. M. S. D.; VASCONCELOS, M. C.; BLANK, A. F. Genetic variability in *Jatropha curcas* L. from diallel crossing. **Genetics and Molecular Research**, v.16, n.2, 2017.

RIBEIRO, E. L. F.; MARANDUBA, H. L.; OLIVEIRA, L. B.; ALMEIDA NETO, J. A.; OLIVEIRA, F. B. S. Relação energética e emissão de GEE do biodiesel de pinhãomanso: Análise sob uma perspectiva dinâmica. **Revista Produção e Desenvolvimento**, v.1, n.2, p.79-89, 2015.

FREITAS, R. G. Caracterização de germoplasma de pinhão-manso (*Jatropha curcas L.*) por descritores morfo-agronômicos. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia na Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2010.

ROMERO, A. C. Resíduos da produção de biodiesel: Avaliação de moléculas bioativas e potencial de aplicação na alimentação animal. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências ao Centro de Energia Nuclear na Agricultura na Universidade de São Paulo. Piracicaba-SP, 2013.

ROQUE, J. V.; DIAS, L. A. S.; TEÓFILO, R. F. 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.1506-1516, 2017.

RUFINO, J. L. S.; SILVEIRA, V. S.; JUNIOR, A. C. R. Introdução e Metodologia de Estudo – Capítulo I. Caracterização da Cafeicultura de Montanha de Minas Gerais. 2010. Estudos INAES. Cadeias Produtivas. **Café - Volume I**. Disponível em: <a href="http://www.sistemafaemg.org.br/web/files/17913264362471481712182001732471901">http://www.sistemafaemg.org.br/web/files/17913264362471481712182001732471901</a> 99432722.pdf>. Acesso em: 12 set. 2017.

SACHDEVA, K.; KUMAR, S. N.; MANMOHAN, S.; BIRENDRA, S.; CHARANJEET, S. Evaluation of analgesic and antimicrobial activity of stem bark

extract of *Jatropha curcas*. **International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy**, v.2, p.572-576, 2011.

SAETAE, D.; SUNTORNSUK, W. Antifungal acitivites of ethanolic extract from *Jatropha curcas* seed cake. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v.20, p.319-324, 2010.

SALIM, M. N.; MASYITHA, D.; HARRIS, A.; BALGIS, U.; ISKANDAR, C. D.; HAMBAL, M.; DARMAWI. Anti-inflammatory activity of *Jatropha curcas* Linn. latex in cream formulation on CD68 expression in mice skin wound. **Veterinary World**, v.11, n.2, p.99-103, 2018.

SANGEETHA, J.; DIVYA, K.; PRASHANTH, M. V.; VAMSHIKRISHNA, A.; RANI, G. L. Anti-inflammatory and antibacterial activity of *Jatropha curcas* Linn. **Journal Pharmaceutical Research Health Care**, v.2, p.258-262, 2009.

SANTOS, M. B.; SANTOS, C. Y.; ALMEIDA, M. A., SANTOS, C. R. S.; SANT'ANNA, H. L. S.; SANTOS, O. S. N., SILVA, F.; MARTINS, G. N. Efeito inibitório in vitro de extrato vegetal de *Allium sativum* sobre *Aspergillus niger* Tiegh. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.12, n.1, p.13-17, 2010.

SATO, M.; BUENO, O. D. C.; ESPERANCINI, M.; FRIGO, E. P. A cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.): uso para fins combustíveis e descrição agronômica. **Revista Varia Scientia**, v.7, n.13, p.47-62, 2009.

SATURNINO, H. M.; PACHECO, D. D.; KAKIDA, J.; TOMINAGA, N. Cultura do pinhão-manso (*Jatropha curcas* L.). **Informe Agropecuário**, v.26, n.229, p.44-78, 2005.

SCHVARSTSMAN, S. Studies on nutritive potential toxic constituent of different provenances of Jatropha curcas. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, n.8, p.3152-3157, 1997.

SILVA, J. L.; SOUZA, P. E.; MONTEIRO, F. P.; FREITAS, M. L. O.; SILVA JÚNIOR, M. B.; BELAN, L. L. Antifungal activity using medicinal plant extracts against pathogens of coffee tree. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.16, n.3, p.539-544, 2014.

SILVA, H. D.; SOUZA, M. D. C.; GIUSTOLIN, T. A.; ALVARENGA, C. D.; FONSECA, E. D.; DAMASCENO, A. S. Bioatividade dos extratos aquosos de plantas às larvas da mosca-das-frutas, *Ceratitis capitata* (Wied.). **Plant Parasitology**, v.82, p.1-4, 2015.

SILVA, C. L.; FILHO, G. M. S.; PAIVA, R. N. Efeito das aplicações de fungicidasinseticidas via solo com complementação foliar, para o controle de ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix*). **42º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**, Varginha-MG, 2016.

SILVA-CRUZ, M. E., FREITAS SCHWAN-ESTRADA, K. R., BALBIPEÑA, M. I., TERUMI ITAKO, A., CLEMENTE, E., STANGARLIN, J. R. Control del moho azul en poscosecha de manzana con productos naturales. **Idesia** (**Arica**), v.33, n.2, p.57-63, 2015.

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

SOUZA, E. P.; PERINO, F. H. B.; MOSCATO, B. S.; FREITAS, P. G. N.; BLUMER, S.; CARDOSO, A. I. I.; BONINI, C. S. B.; NETO, A. B. Extrato de própolis no controle do *Penicillium* sp. E na qualidade de sementes de couve-flor. **Brazilian Journal of Biosystems Engineering**, v.11, n.2, p.135-141, 2017.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 918p.

TEQUIDA-MENESES, M., CORTEZROCHA, M., ROSAS-BURGOS, C., LOPEZ-SANDOVAL, S., CORRALESMALDONADO, C. Efecto de extractos alcoholicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavans*, *Aspergillus niger*, *Penicilliun expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. **Revista Iberoamericana de Micología**, v.19, p.84-88, 2002.

THANGAVELU, R.; SUNDARARAJU, P.; SATHIAMOORTHY, S. Management of anthracnose disease of banana caused by *Colletotrichum musae* using plant extracts. **Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.79, p.664-668, 2004.

THULLER, R.T.; BORTOLI, S.A.; GOULART, R.M.; PEREIRA-VIANA, C.L.T.; PRATISSOLI, D. Interação tritrófica e influência de produtos químicos e vegetais no

complexo: brássicas x traça-das-crucíferas x parasitóides de ovos. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.4, p.1154-1160, 2008.

TOMINAGA, N.; KAKIDA, J.; YASUDA, E. K. Cultivo de pinhão manso para produção de biodiesel. Viçosa: CPT, 2007, 220p.

UCHE, F. I.; APRIOKU, J. S. The phytochemical constituents, analgesic and antiinflammatory effects of methanol extract of *Jatropha curcas* leaves in mice and Wister lbino rats. **Journal of Applied Science and Environmental Management**, v.12, p.99-102, 2008.

UNGARO, M. R. G.; REGITANO NETO, A. Métodos de propagação e germinação de sementes de *Jatropha curcas* L. In: **4º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel - Biodiesel: Combustível Ecológico.** Varginha: Anais Varginha, p.721-725, 2007.

VEGRO, C. I. R.; CAMPOS, E. R. Naufrágio Orgânico. 2013. Artigo em Hypertexto. Disponível: http://www.infobibos.com/Artigos/20131/naufragio/index.htm. Acesso em: 09 de agosto de 2018.

VIRGENS, I. V.; CASTRO, R. D.; LOUREIRO, M. B.; FERNANDEZ, L. G. Review: *Jatropha curcas* L.: morphophysiological and chemical aspects. **Brazilian Journal Food of Technology**, v.20, e2016030, 2017.

WEI, Q.; LIAO, Y.;, ZHOU, L. J. Antifungal activity of curcin from seeds of *Jatropha curcas*. China Journal Oil Crop Science, v.26, p.71-75, 2004.

WONGKRAJANG, P.; NURLEY, P. S.; TEMSIRIRIRKKUL, R.; THONGPRADITCHOTE, S.; RUANGWISES, N.; MITREVEJ, A.; KHAMMANIT, R.; HANYONGYUTH, R. Hemostatic effect of n-hexane extracts of *Jatropha curcas* Linn leaf. Mahidol Univ. **Journal Pharmaceutical Sciences**, v.42, n.3, p.110-117, 2015.

ZAMBOLIM, L. **I Encontro sobre produção de café com qualidade**. 1ª Edição. Suprema Gráfica e Editora Ltda. Viçosa: Suprema Gráfica e Editora, 1999.

ZAMBOLIM, L.; VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, E. M. Doenças do cafeeiro. In: KIMATI, H. et al. (Ed.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Ceres, v.2, p.165-180, 2005.

ZANON, N. B. **Análise econômica e de investimento da cultura do pinhão manso** (*Jatropha curcas* **L.**). 2012. 50 f. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Engenharia à Universidade Estadual Paulista – Campus de Ilha Solteira, São Paulo. 2012.

ZOTTI, M. J.; GRÜTZMACHER, A. D.; GRÜTZMACHER, D. D.; CASTILHOS, R. V.; MARTINS, J. F. S. Seletividade de inseticidas usados na cultura do milho para ovos e ninfas do predador *Doru lineare* (Eschscholtz, 1822) (Dermaptera: Forficulidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, n.1, p.111-118, 2010.