

CONTROLE DE *Aspergillus welwitschiae* E DA PODRIDÃO VERMELHA COM RESÍDUO LÍQUIDO DO DESFIBRAMENTO DAS FOLHAS DE SISAL

Rafael Mota da Silva¹, Sara Samanta da Silva Brito², Cristiano Oliveira do Carmo³, Ana Cristina Fermino Soares⁴

¹Engenheiro Agrônomo, Professor Doutor da Faculdade da Região Sisaleira (FARESI), R. Sra. Santana - Jaqueira, Conceição do Coité/BA - CEP: 48730-000

²Engenheira Agrônoma, Doutora em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Rua Rui Barbosa, 710 - Centro - Cruz das Almas/BA – CEP: 44.380-000

³ Engenheiro Agrônomo, Doutorando em Ciências Agrárias, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Rua Rui Barbosa, 710 - Centro - Cruz das Almas/BA – CEP: 44.380-000

⁴ Professora Doutora da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), Rua Rui Barbosa, 710 - Centro - Cruz das Almas/BA – CEP: 44.380-000

*Autor para correspondência: Rafael Mota da Silva, rafaelmotadasilva@hotmail.com

RESUMO: Cultura com importante papel socioeconômico para o semiárido nordestino, o Sisal (*Agave sisalana* Perrine) concentra sua produção no Brasil principalmente no estado da Bahia. Nas últimas décadas, tem ocorrido um decréscimo na produtividade de sisal devido à ocorrência da doença podridão vermelha causada pelo fungo *Aspergillus welwitschiae*. Objetivou-se no presente trabalho avaliar o potencial do resíduo oriundo do desfibramento das folhas de sisal, fermentado em condições naturais de campo, para o controle de *A. welwitschiae* e da podridão vermelha, por meio de testes in vitro, em segmentos de caule de sisal e em mudas de sisal. O patógeno foi isolado de plantas de sisal com sintomas da doença de uma área de produção de sisal no município de São Domingos – BA, foi avaliado o potencial de inibição do crescimento micelial e esporulação de *A. welwitschiae* em meio de cultura BDA contendo a calda nas concentrações de 0%, 25%, 50% e 75%, e em segmentos do caule do sisal e mudas a calda foi avaliada nas concentrações 0, 25, 50, 75 e 100%. A calda do resíduo líquido do desfibramento das folhas de sisal causou inibição do crescimento micelial do *A. welwitschiae* de 89,8% e 100% nas concentrações de 50% e 75%. Em disco de caule de sisal a calda promoveu o controle da esporulação do *A. welwitschiae* nas concentrações de 25%, 50%, 75% e 100%. Em mudas de sisal, a calda reduziu a severidade da doença, mas não promoveu o controle de 100% da doença. A calda do resíduo fermentado de sisal tem efeito tóxico ao patógeno em função do aumento da concentração, atuando no controle de *A. welwitschiae* e reduz a severidade da podridão vermelha em mudas de sisal.

PALAVRAS CHAVE: Atividade antifúngica, Metabólitos secundários, *Agave sisalana*

CONTROL OF *Aspergillus welwitschiae* AND RED ROT WITH LIQUID DISFIGMENTATION RESIDUE FROM SISAL LEAVES

ABSTRACT: Culture with important socioeconomic role for the northeastern semiarid, Sisal (*Agave sisalana* Perrine) concentrates its production in Brazil mainly in the state of Bahia. In recent decades, there has been a decrease in sisal productivity due to the occurrence of red rot disease caused by the fungus *Aspergillus welwitschiae*. The objective of the present work was to evaluate the potential of the residue from the defibration of sisal leaves, fermented under natural field conditions, for the control of *A. welwitschiae* and red rot, by in vitro tests, on stem segments sisal and in sisal seedlings. The pathogen was isolated from sisal plants with disease symptoms from a sisal production area in the municipality of São Domingos - BA. The potential for inhibition of mycelial growth and sporulation of *A. welwitschiae* in BDA medium containing syrup was evaluated at concentrations of 0%, 25%, 50% and 75%, and in segments of the sisal stem and seedlings, the syrup was evaluated at concentrations 0, 25, 50, 75 and 100%. The liquid residue from the sisal leaf defibration caused inhibition of *A. welwitschiae* mycelial growth of 89.8% and 100% at 50% and 75% concentrations. In a sisal stem disc the syrup promoted the control of *A. welwitschiae* sporulation at 25%, 50%, 75% and 100% concentrations. In sisal seedlings, the syrup reduced the severity of the disease, but did not promote 100% control of the disease. The syrup from the fermented sisal residue has a toxic effect on the pathogen due to the increased concentration, acting on *A. welwitschiae* control and reduces the severity of red rot in sisal seedlings.

KEY WORDS: Antifungal activity, Secondary metabolites, *Agave sisalana*

INTRODUÇÃO

O Sisal (*Agave sisalana* Perrine), planta originária do México adaptou-se facilmente as condições semiáridas brasileiras, tornando o Brasil o lugar de destaque como maior produtor e exportador de fibra (FAO, 2017). Sua produção está concentrada no semiárido nordestino, abrangendo os estados da Bahia, Paraíba, Rio Grande do Norte e Ceará, sendo o estado da Bahia responsável por 95% da produção nacional (IBGE, 2017).

Durante o desfibramento do sisal apenas 4% da folha é aproveitada na forma de fibra, esta é destinada a produção de fios e cordas que dão origem a outros produtos como tapetes, capachos, mantas e produtos artesanais. Dos 96% restantes, 16% são resíduos sólidos e 80% são resíduos líquidos, é a partir destes que estão surgindo os novos produtos e subprodutos oriundos do sisal; utilizados de diversas maneiras desde alimentação animal até controle de fitopatógenos (Nava-Cruz et al., 2014).

Diversos compostos químicos de distintas classes como alcaloides, flavonóis, taninos, compostos fenólicos, cumarinas são produzidos no metabolismo secundário do sisal, entre estes as espécies da família Agavaceae são ricas em saponinas especialmente o gênero *Agave* (Sidana et al., 2016; Ahumada-Santos et al., 2013). Estas substâncias estão relacionadas, principalmente, ao mecanismo de defesa das plantas e podem apresentar efeito inibitório contra microrganismos causadores de doença em plantas cultivadas.

Entretanto, na última década, um decréscimo na produtividade de sisal no sertão da Bahia tem ocorrido devido à doença conhecida como podridão vermelha do sisal. Esta doença encontra-se disseminada em quase todos os plantios, com incidências variando entre 5 e 35% (Coutinho et al., 2006). Apresenta como agente causal o *Aspergillus welwitschiae*, fungo saprofítico oportunista que se comporta como patógeno necrotrófico causando sintomas como o amarelecimento e murcha das folhas que evolui para a podridão do caule e morte da planta (Duarte et al, 2018).

Atualmente essa doença ainda não possui métodos de controle eficazes. Com o surgimento de microrganismos cada vez mais resistentes, a necessidade de maior segurança o desenvolvimento de novas tecnologias além do aproveitamento de

resíduos oriundos de culturas agrícolas para controle de doenças em planta tem crescido atualmente (Pandey et al., 2017).

O resíduo líquido oriundo do processamento das folhas de sisal tem sido bastante estudado mediante algumas atividades biológicas já comprovadas na literatura, entre elas a atividade inseticida contra os mosquitos *Aedes aegypti* (Oliveira et al., 2016); contra os nematoides *Radopholus similis* e *Meloidogyne javanica* que destroem plantações de banana e tomate (Jesus et al., 2015; Damasceno et al., 2015) e o seu potencial antimicrobiano já comprovado contra algumas bactérias (*Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*) e fungos como *Candida albicans* e *Aspergillus flavus* (ADE-AJAYI et al., 2011; Ahumada-Santos et al., 2013).

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo, avaliar o potencial de utilização do resíduo fermentado de sisal no controle de *A. welwitschiae* e da podridão vermelha do sisal.

MATERIAL E MÉTODOS

Resíduo líquido de sisal fermentado

O resíduo líquido de sisal fermentado foi obtido de uma área de produção no município de São Domingos, Bahia, oriundo do processo de desfibramento das folhas de sisal através do uso de um motor conhecido como "Motor de Agave".

Para utilização nos testes in vitro e in vivo o resíduo líquido de sisal fermentado foi diluído em água na proporção de 1:1, essa mistura é chamada no decorrer do trabalho como calda. A calda foi mantida em decantação por quatro dias em recipiente fechado a temperatura ambiente (28 ± 2 °C), filtrada em peneira de solo 400 MESH e esterilizada por 10 minutos na luz Ultravioleta, em câmara de fluxo laminar vertical no laboratório de Microbiologia da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB.

Obtenção do isolado *A. welwitschiae*

O fungo *A. welwitschiae* foi obtido da coleção de culturas do Laboratório de Microbiologia Agrícola da UFRB; isolado de plantas de sisal com sintomas da doença podridão vermelha de uma área de produção de sisal no município de São Domingos, Bahia. O fungo foi repicado em placas de Petri contendo meio

de cultivo BDA (batata, dextrose, ágar) e mantido por 7 dias à temperatura de 28 ± 2 °C para crescimento da colônia e posterior utilização nos ensaios, estes foram identificados por caracterização molecular e morfológica (Duarte et al., 2018).

Teste in vitro da calda

Os testes foram realizados por meio da determinação do potencial de inibição do crescimento micelial e esporulação de *A. welwitschiae* em meio de cultura BDA contendo diferentes proporções da calda. A calda filtrada e esterilizada foi adicionada ao meio BDA, próximo ao ponto de solidificação, sendo em seguida agitado e colocado em placas de Petri, nas concentrações de 25, 50 e 75%, acrescentando-se 1 mL de Tormicina para evitar crescimento bacteriano. No tratamento controle, utilizou-se meio BDA sem adição da calda.

Vinte e quatro horas após a solidificação do meio, fez-se a transferência de esporos do *A. welwitschiae* para o centro da placa de Petri contendo meio BDA+calda, utilizando-se uma cultura do fungo com 7 dias de crescimento em meio BDA a temperatura ambiente, estas foram incubadas a temperatura de 28 ± 2 °C. O crescimento micelial foi avaliado a cada 24 horas, por meio da medição do diâmetro da colônia em dois sentidos diametralmente opostos, com auxílio de régua milimetrada, até a colônia do tratamento controle atingir as bordas da placa.

Para avaliação do índice de velocidade de crescimento micelial utilizou-se a fórmula adaptada de Oliveira (1992): $IVCM = \sum(D - D_a)/N$, onde: D = diâmetro atual da colônia, D_a = diâmetro da colônia do dia anterior, N = número de dias após a inoculação).

A esporulação de *A. welwitschiae* foi avaliada ao fim do experimento, onde 20 mL de solução salina (0,85% NaCl) esterilizada foi adicionada em cada placa com as culturas nas respectivas concentrações (25, 50 e 75% e controle). Estas foram raspadas com uma alça de Drigalsk flambada avaliando-se a concentração de esporos dessa suspensão, através da câmara de Neubauer e microscópio ótico, calculando-se a concentração de esporos no volume total de 20 mL da solução salina.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, contendo quatro tratamentos

(diluções da calda: 0, 25, 50 e 75%) e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e de regressão com auxílio do programa estatístico Sisvar.5.6 (Ferreira, 2014).

Efeito da calda em segmentos do caule do sisal

Foram cortados segmentos de caule de plantas de sisal em forma de discos com 17 mm de diâmetro por 0,5 mm de altura. Estes discos foram lavados e desinfestados em álcool 70% e hipoclorito de sódio 1%, ambos por cinco minutos, seguido de duas lavagens com água destilada esterilizada (SÁ, 2009), imersos na calda, com diferentes concentrações (0, 25, 50, 75 e 100%) por 12 horas. Posteriormente, cada disco foi acondicionado em copo plástico descartável (capacidade para 100 mL), contendo uma fina camada de papel toalha esterilizado no fundo.

Os discos foram pulverizados com 1mL da suspensão de esporos (10^7 conídios.mL⁻¹) do *A. welwitschiae*. O controle negativo consistiu da imersão dos discos de sisal em água esterilizada e inoculação destes com *A. welwitschiae*. Além disso, utilizou um controle positivo composto por segmentos de caule sem calda e não inoculados.

Os copos contendo os discos de sisal tratados foram vedados com tampas de plástico e incubados a temperatura ambiente, por um período de cinco dias. Após a incubação, foi observado a presença ou não do crescimento do fungo, os discos foram transferidos para frascos de Erlenmeyer com capacidade de 50 mL, contendo 20 mL de solução salina (0,85 % NaCl), com 100 µL de Tween20®, agitados durante 1 minuto para obtenção da suspensão dos esporos presentes no segmento do caule. Em seguida, fez-se a avaliação da concentração de esporos do *A. welwitschiae* dessa suspensão, com câmara de Neubauer e microscópio ótico, sendo calculada a concentração de esporos no volume total de 20 mL da solução salina, que corresponde a concentração de esporos no disco de caule de sisal.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (0, 25, 50, 75 e 100%) e cinco repetições.

Teste in vivo da calda no controle de *A. welwitschiae* em mudas de sisal

A avaliação do potencial de biocontrole da

calda em condições in vivo foi realizada em estufa agrícola, no campus de Cruz das Almas da UFRB, com mudas de sisal com 20 a 30 cm de altura. O caule e as raízes das mudas foram imersos na calda nas concentrações 0, 25%, 50%, 75% e 100% por 12 horas. Para a inoculação, foram feitos ferimentos padronizados com quatro furos em pontos equidistantes ao redor do caule de cada muda, região onde se procedeu a inoculação com *A. welwitschiae*, por meio da aspersão da suspensão de conídios (107 conídios.mL⁻¹) conforme descrito por Sá (2009). Plantas sem tratamento com a calda e inoculados com o patógeno e plantas tratadas apenas com água foram utilizadas como controles negativo e positivo do experimento, respectivamente. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, com 5 tratamentos (0, 25, 50, 75 e 100%) e 20 repetições sendo cada repetição constituída por uma planta.

A avaliação da doença foi realizada 30 dias após a inoculação das mudas, por meio do corte da planta e observação da presença dos sintomas de

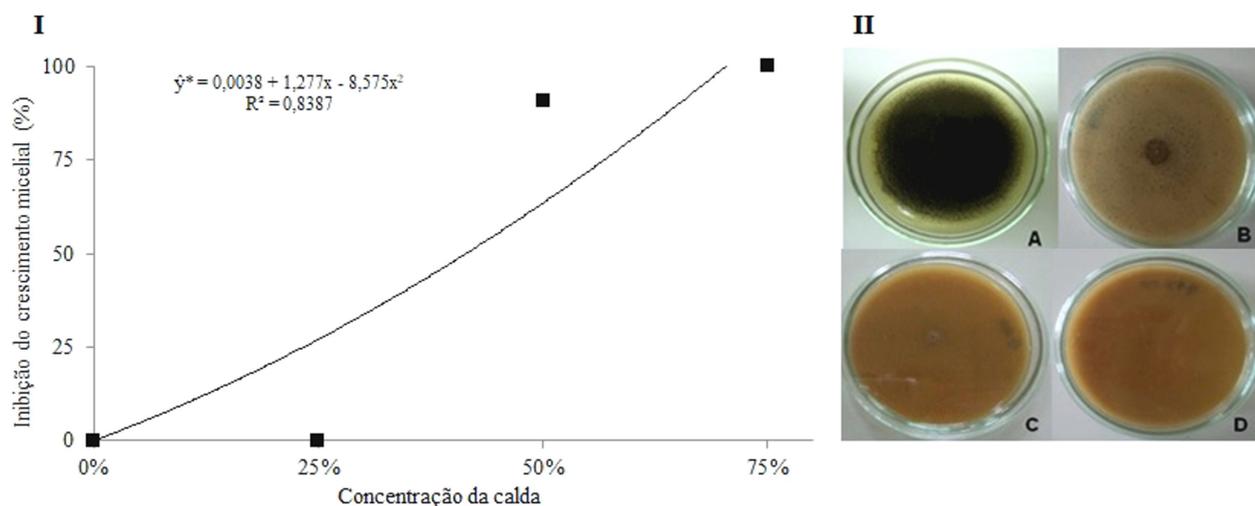
podridão vermelha no caule e avaliação de severidade da doença através da escala descritiva de sintomas conforme descrito por Sá (2009). As notas obtidas nos resultados foram transformadas para arcsen (x/100)0,5, e as médias submetidas à análise de variância e de regressão, utilizando o programa estatístico Sisvar 5.6 (Ferreira, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Teste in vitro da calda

A calda oriunda do resíduo fermentado de sisal causou significativas reduções no crescimento micelial do *A. welwitschiae* em condições in vitro. O crescimento micelial do patógeno em meio BDA foi reduzido em 89,8% e 100% quando utilizou a calda nas concentrações de 50% e 75%, respectivamente. Na concentração de 25% o resultado encontrado foi contrário, apresentando o estímulo do crescimento micelial do fungo o que pode ser observado na Figura 1.

Figura 1. (I) Porcentagem de inibição do crescimento micelial e (II) Crescimento micelial e esporulação de *Aspergillus welwitschiae* em meio BDA com calda de resíduo líquido de sisal em diferentes concentrações: A) controle (-) BDA sem calda; B) 25%; C) 50% e D) 75%.



No entanto, mesmo não causando inibição do crescimento micelial do fungo na concentração de 25%, a calda causou significativa redução na esporulação do fungo quando comparada ao controle.

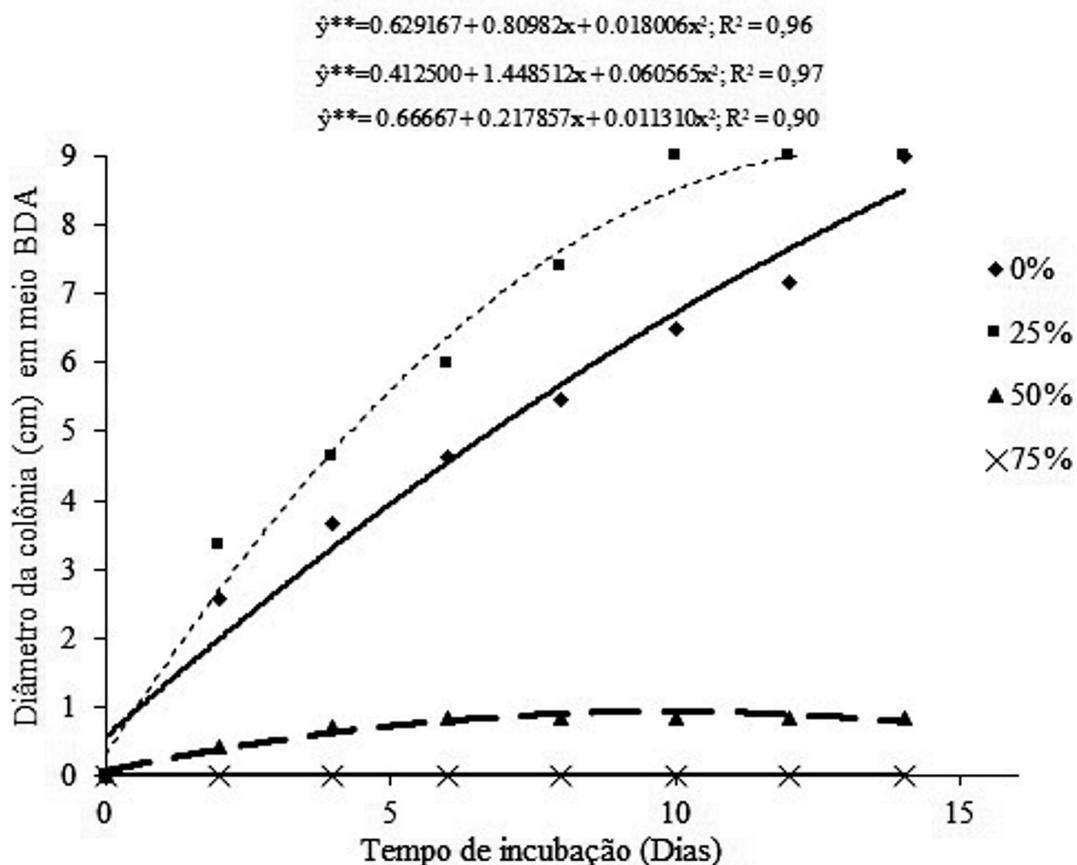
Nas maiores concentrações observa-se uma redução acentuada na esporulação, não apresentando esporos do fungo na concentração de 75% já que a inibição do *A. welwitschiae* ocasionada foi de 100% (Tabela 1).

Tabela 1. Número de esporos de *Aspergillus welwitschiae* na colônia crescida em meio BDA e nos discos de caule de sisal em diferentes concentrações da calda aos 14 dias de incubação.

Concentração (%)	Nº de esporos em meio BDA	Nº de esporos em disco de caule
0	33,61 x 10 ⁷	92,29 x 10 ⁷
25	18,29 x 10 ⁷	0
50	2,19 x 10 ⁷	0
75	0	5,2 x 10 ⁷
Equações	$\hat{y} = 52500x^2 - 9E + 06x + 3E + 08,$ $R^2 = 98,53\%, P < 0.001$	$\hat{y} = 222834x^2 - 3E + 07x + 8E + 08,$ $R^2 = 86,54\%, P < 0.001$

O estímulo do crescimento micelial do fungo apresentado na concentração de 25% pode ser verificado através da velocidade de crescimento micelial, quando comparado aos demais tratamentos (Figura 2). A inibição do crescimento micelial e da

esporulação são mecanismos de controle da podridão vermelha, considerando que a esporulação é necessária para a disseminação do fungo e o crescimento micelial é necessário para que ocorra infecção e colonização (Duarte, 2018).

Figura 2. Índice de velocidade de crescimento micelial de *Aspergillus welwitschiae* em meio BDA com diferentes concentrações da calda do resíduo fermentado de sisal durante 14 dias de incubação.

Sendo esta espécie de fungo ainda pouco estudada, sugere-se que substâncias contidas no resíduo líquido de sisal e os metabólitos secundários produzidos pela microbiota responsável pela fermentação do resíduo, nas concentrações mais elevadas, apresentaram efeito inibitório ao crescimento micelial do *A. welwitschiae*. O resíduo

líquido do sisal tem como principais constituintes do metabolismo secundário: alcaloides, saponinas e taninos. Dentre estes as saponinas encontradas em maiores quantidades atuam como mecanismo de defesa das plantas, apresentando um alto potencial como biofungicida natural (Apaza et al., 2016).

De acordo com Schenkel et al. (2010) a atividade biológica das saponinas está relacionada a capacidade de formar complexos com esteroides, proteínas e fosfolípidios das membranas celulares, provocando perturbações na estrutura destes compostos e aumentando a permeabilidade celular.

Alguns autores relatam o controle do *Aspergillus niger* in vitro com uso de alguns produtos naturais, Gama et al. (2015) utilizaram medicamentos homeopáticos e inibiram o crescimento micelial e a germinação de esporos do *A. niger*. Ribeiro et al. (2013) também obtiveram resultados positivos ao encontrar um MIC de 312.5 µg.mL⁻¹ para o *A. niger* utilizando o extrato de Juá (*Zizipus joazeiro*) planta encontrada facilmente nos agroecossistemas brasileiros. Já Souza e Soares (2013) utilizando o extrato aquoso do alho (*Allium sativum*) na concentração de 3000 µg.mL⁻¹ inibiram 100% do crescimento micelial e da esporulação do *A. niger*.

Efeito da calda em segmentos do caule de sisal

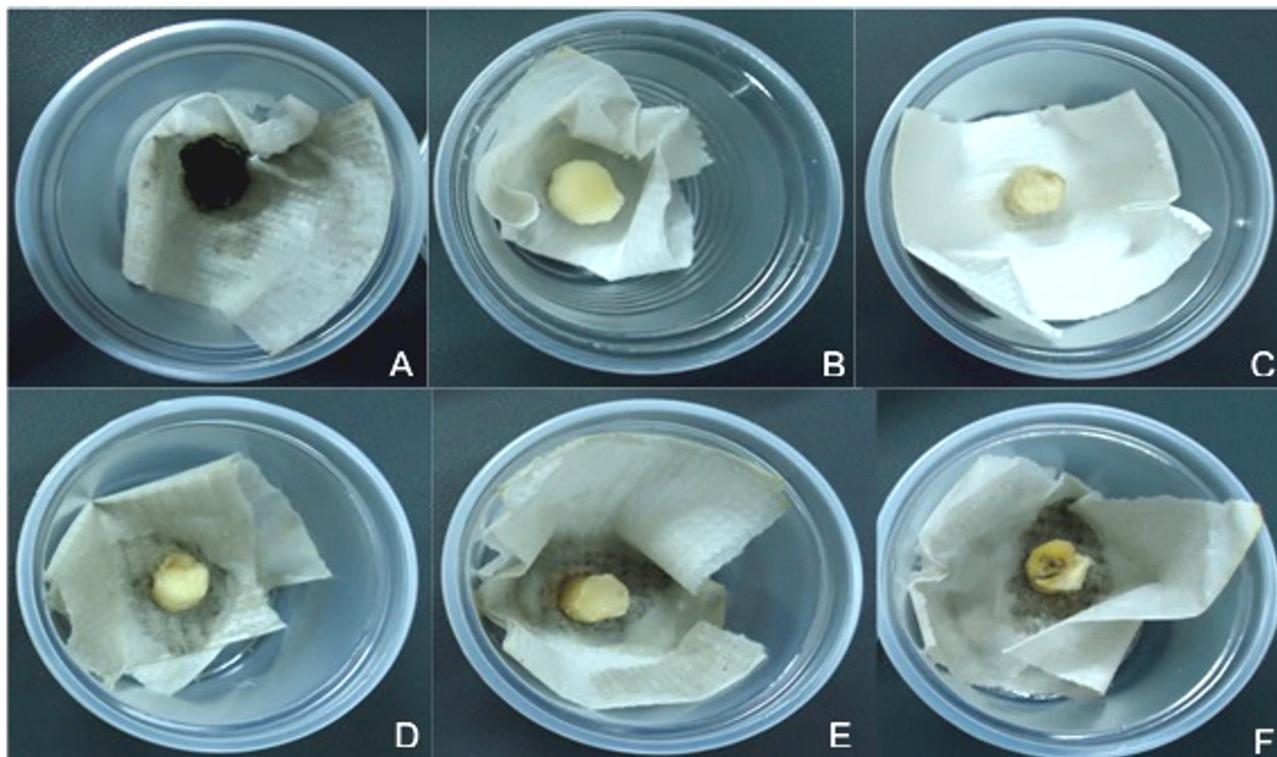
A inibição da esporulação do patógeno em discos de tecido de sisal foi observada em todas as concentrações da calda testada (Tabela 1). Entretanto, quando comparados com a esporulação do patógeno

em meio de cultura BDA, o tratamento controle nos tecidos de disco de sisal proporcionou uma maior esporulação, indicando que este tecido favorece o crescimento e esporulação de *A. welwitschiae*.

O sisal é uma planta suscetível à infecção e colonização por *A. welwitschiae*, agente causal da podridão vermelha. O *A. welwitschiae* é uma espécie de fungo habitante de solo, pertencente a um complexo de espécies da seção *Nigri*. Em plantios de sisal inicialmente esta espécie era conhecida como *A. niger*, no entanto Duarte et al. (2018) em seus estudos comprovou a presença da espécie *A. welwitschiae* em todas as amostras de solo e raiz de plantas da região semiárida da Bahia produtora de sisal.

O resíduo fermentado e preparado na forma de calda adquire propriedades fungicidas e tem efeito de biocontrole de *A. welwitschiae* nos tecidos de caule do sisal, podendo agir no controle da podridão vermelha do sisal em campo (Figura 3). De acordo com Schwan-Estrada et al. (2000) o processo de fermentação do resíduo de sisal libera substâncias, como metabólitos secundários produzidos pelas bactérias, fungos e leveduras, que podem apresentar ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos.

Figura 3. Discos de caule de sisal desinfestados, tratados por imersão na calda de resíduo de sisal nas concentrações de: A) controle (-); B) controle (+); C) 25%; D) 50%; E) 75% e F) 100% inoculados com *Aspergillus welwitschiae* e incubados por cinco dias a 28±2°C.

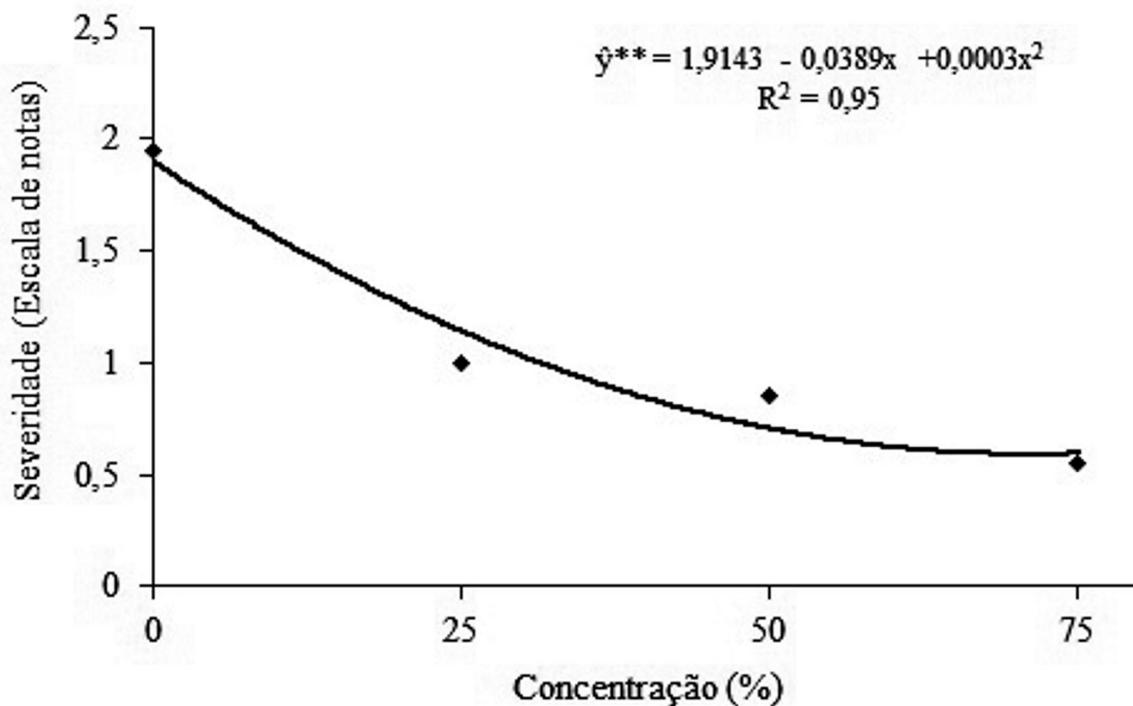


Teste in vivo da calda no controle de *A. welwitschiae* em mudas de sisal

Verificou-se o efeito de controle da podridão vermelha em mudas de sisal tratadas com a calda. Com o auxílio da escala de notas desenvolvida por Sá (2009)

foi possível constatar que os tratamentos com a calda nas concentrações de 25, 50 e 100% não apresentaram diferença significativa entre si, no entanto, o tratamento com 75% da calda diferiu significativamente do controle e das demais concentrações (Figura 4).

Figura 4. Severidade da doença podridão vermelha em mudas de sisal tratadas por imersão das raízes e caule em diferentes concentrações da calda por 12 horas e inoculadas com *Aspergillus welwitschiae* por 30 dias. Controle (+) mudas tratadas com água e inoculadas com *Aspergillus welwitschiae*.



A calda apresentou um efeito de controle do fungo em condições in vitro e da doença podridão vermelha in vivo, proporcionando uma diminuição na severidade da doença, quando comparado ao controle, mas não promoveu 100% de controle da podridão vermelha em mudas de sisal. A severidade da doença informa a porcentagem da área ou do volume de tecido da planta coberto por sintomas da doença, sendo este um resultado inicial promissor da utilização da calda no controle de doenças em plantas visto que quanto menos tecido infectado mais fácil da planta resistir e sobreviver ao ataque do patógeno.

A defesa natural da planta contra patógenos ocorre devido a barreiras e mecanismos já existentes, porém alguns mecanismos são ativados após a exposição a agentes bióticos ou abióticos chamada resistência induzida (Barros et al., 2010). Esse mecanismo de resistência incluem a produção de

fitoalexinas, compostos antimicrobianos de baixa massa molecular acumulados em resposta à infecção pelo próprio fungo e proteínas relacionadas à patogênese como quitinases e peroxidases (Schwan-Estrada et al., 2008). Essas moléculas de origem biótica ou abiótica são chamadas de elicitores ou eliciadores, os extratos de plantas como a calda de resíduo fermentado de sisal são conhecidos como elicitores não convencionais e apresentam propriedades antimicrobianas e/ou indutoras de resistência (Schwan-Estrada; Stangarlin, 2005).

Acredita-se que o fermento causado na muda pode ter acelerado o aparecimento dos sintomas além do curto tempo de exposição da muda à calda, esta não foi incorporada ao solo e por isso pode não ter proporcionado o melhor efeito da calda que poderia auxiliar no controle da doença. Sendo portanto necessário testes posteriores com imersão da muda na calda por períodos superiores às 12 h.

Souza (2010) demonstrou que o líquido do resíduo fresco de sisal estimula o crescimento micelial e esporulação de *A. niger* e acelera o aparecimento dos sintomas e a severidade da podridão vermelha do caule de sisal. Carmo et al. (2017) também avaliaram a utilização do extrato aquoso do resíduo de sisal no controle alternativo da podridão vermelha da região produtora de sisal na Bahia e observaram que o resíduo fresco favorece o crescimento do fungo e a severidade da podridão vermelha. Entretanto, o mesmo resíduo quando fermentado inibe este fungo e promove o controle da podridão vermelha independente da concentração utilizada.

Desta forma, os resultados apresentados demonstram que a calda de resíduo fermentado de sisal inibe o crescimento micelial e esporulação de *A. welwitschiae* em condições de laboratório e também em condições de campo, onde os testes com mudas comprovaram o potencial da calda para o controle da podridão vermelha do sisal em todas as concentrações testadas.

Destacando, portanto, a importância deste subproduto para agricultores familiares da região semiárida que possuem a cultura do sisal como cultura de subsistência, através da extração da fibra como única fonte de renda; no entanto, eles mantêm enormes quantidades de resíduo no campo sem qualquer tratamento ou uso adequado. Agregar valor a esse resíduo pode representar uma nova fonte de renda para os agricultores da região sisaleira da Bahia, diminuir a ocorrência e disseminação da doença em suas áreas com um custo baixo através da utilização da calda como biofungicida.

REFERÊNCIAS

- Ade-Ajayi, A. F.; Hammuel, C.; Ezeayanaso, C.; Ogabiela, E. E.; Udiba, U. U.; Anyim, B.; Olabanji, O. Preliminary phytochemical and antimicrobial screening of *Agave sisalana* Perrine juice (waste). *Journal Environmental Chemistry and Ecotoxicology*, **2011**, 3, 180–183.
- Ahumada-Santos, Y.; Montes-Avila, J.; Uribe-Beltran, M. J.; Díaz-Camacho, S. P.; López-Angulo, G.; Veja-Aviña, R.; López-Venezuela, J. A.; Herdia, J. B.; Delgado-Vargas, F. Chemical characterization, antioxidant and antibacterial activities of six *Agave* species from Sinaloa, Mexico. *Industrial Crops and Products*, **2013**, 40, 143–9.
- Apaza, R. S. Efecto de saponinas de *Chenopodium quinoa* Willd contra el fitopatógeno *Cercospora beticola* Sacc. *Protección vegetal*, **2016**, 31, 1, 63-69.
- Barros, F. C.; Sagata, E.; Ferreira, L. C. C., Juliatti, F. C. Indução De Resistência em Plantas Contra Fitopatógenos. *Bioscience Journal. Uberlândia*, **2010**, **26**, 2, 231-239.
- Carmo, C. O.; Tavares, P. F.; Silva, R. M.; Damasceno, C. L.; Sá, J. O.; Soares, A. C. F. Fatores que afetam a sobrevivência de *Aspergillus niger* e sua relação com a podridão vermelha do caule do sisal. *Magistra*, **2017**, 29, 2, 144-153.
- Coutinho, W. M.; Suassuna, N. D.; Luz, C. M.; Suinaga, F. A.; Silva, O. F. E. Bole rot of sisal caused by *Aspergillus niger* in Brazil. *Fitopatologia Brasileira*, **2006**, 31, 6, 605.
- Damasceno, J. C. A.; Soares, A. C. F.; Jesus, F. N.; Sant'ana, R. S. Sisal leaf decortication liquid residue for controlling *Meloidogyne javanica* in tomato plants. *Horticultura Brasileira*, **2015**, 33, 155-162.
- Duarte, E. A. A.; Damasceno, C. L.; Oliveira, T. A. S.; Barbosa, L. O.; Martins, F. M.; Queiroz Silva, J. R.; Lima, T. E. F.; Silva, R. M.; Kato, R. B.; Bortolini, D. E.; Azevedo, V.; Góes-Neto, A.; Soares, A. C. F. Putting the Mess in Order: *Aspergillus welwitschiae* (and Not *A. niger*) Is the Etiological Agent of Sisal Bole Rot Disease in Brazil. *Frontiers in Microbiology*, **2018**, 9, 1227.
- FAOSTAT. *Food and Agriculture Organization of the United Nations. Statistics Division*. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>. Acessado em: 08.07.19.
- Ferreira, D. F. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. *Ciências e Agrotecnologia*, **2014**, 38, 2, 109-112.
- Gama, E. V. S.; Silva, F.; Santos, I.; Malheiro, R.; Soares, A. C. F.; Pereira, J. A.; Armond, C. Homeopathic drugs to control red rot disease in sisal plants. *Agronomy of Sustainable Development*, **2015**, 35, 649–656.

- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Sistemático da Produção Agrícola (LSPA)*, dezembro 2017. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/Tabela/6588#resultado>. Acessado em: 10.08.18.
- Jesus, F. N.; Damasceno, J. C. A.; Barbosa, D. H. S. G.; Malheiro, R.; Pereira, J. A.; Soares, A. C. F. Control of the banana burrowing nematode using sisal extract. *Agronomy of Sustainable Development*, **2015**, 35, 783–791.
- Oliveira, L. H. G.; Sousa, P. A. P. S.; Hilario, F. F.; Nascimento, G. J.; Morais, J. P. S.; Medeiros, E. P.; Sousa, M. F.; Nunes, F. C. *Agave sisalana* extract induces cell death in *Aedes aegypti* hemocytes increasing nitric oxide production. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*; **2016**, 6, 5, 396–399.
- OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes e no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativas* L.) e pimentão (*Capsicum annanum* L.). *Ciência e Prática*, **1992**, 16, 1, 42-47.
- Nava-Cruz, N. Y.; Medina-Morales, M. A.; Martinez, J. L.; Rodriguez, R.; Aguilar, C. N. *Agave* biotechnology: an overview. *Critical Reviews in Biotechnology*, **2014**, Early Online: 1–14.
- Pandey, A. K.; Kumar, P.; Singh, P.; Tripathi, N. N.; Bajpai, V. K. Essential Oils: Sources of Antimicrobials and Food Preservatives. *Frontiers in Microbiology*, **2017**, 7, 2161.
- Ribeiro, B. D.; Alviano, D. S.; Barreto, D. W.; Coelho, M. A. Z. Functional properties of saponins from sisal (*Agave sisalana*) and juá (*Ziziphus joazeiro*): Critical micellar concentration, antioxidant and antimicrobial activities. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **2013**, 436, 736–743.
- Sá, J. O. *Patogênese de Aspergillus niger e biocontrole da podridão vermelha do sisal por Trichoderma spp.* Dissertação de Mestrado - Cruz das Almas, BA, 54 p, **2009**.
- Schwan-Estrada, K. R. F.; Stangarlin, J. R.; Cruz, M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. *Revista Floresta*, **2000**, 30, 1-2, 129-137.
- Schwan-Estrada, K. R. F.; Stangarlin, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: Cavalcanti, L. S.; Di Piero, R. M.; Cia, P.; Pascholati, S. F.; Resende, M. L. V.; Romeiro, R.S. (Ed.). *Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos*. Piracicaba: FEALQ, **2005**, 125-138.
- Schwan-Estrada, K. R. F.; Stangarlin, J. R.; Pascholati, S. F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: Pascholati, S. F.; Leite, B.; Stangarlin, J. R.; Cia, P. (Ed.). *Interação planta patógeno – fisiologia, bioquímica e biologia molecular*. Piracicaba: FEALQ, **2008**, 227-248.
- Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Athayde, M.L. Saponinas. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R. (eds) *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Editora da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, **2010**, 711–740.
- Sidana, J.; Singh, B.; Sharma, O. P. Saponins of *Agave*: Chemistry and bioactivity. *Phytochemistry*, **2016**, 130, 22 – 46.
- Souza, L. S. S. *Extratos aquosos de alho (Allium sativum L.) e sisal (Agave sisalana Perrine) no controle de Aspergillus niger e da podridão vermelha do sisal*. 91f. Dissertação Mestrado em Ciências Agrárias – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, **2010**.
- Souza, L. S. S.; Soares, A. C. F. Extrato aquoso de alho (*Allium sativum* L.) no controle de *Aspergillus niger* causador da podridão vermelha em sisal. *Tecnológica*, Santa Cruz do Sul, **2013**, 17, 2, 124-128.