



**USO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE
DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum gloeosporioides*
Penz.) EM MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)**

ELZIVAN FELIX FERREIRA

2013

ELZIVAN FELIX FERREIRA

USO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE
(Colletotrichum gloeosporioides Penz.) EM MAMOEIRO (Carica papaya L.)

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador:

Prof. Dr. Abel Rebouças São José

VITÓRIA DA CONQUISTA

BAHIA – BRASIL

2013

F349u Ferreira, Elzivan Felix.

Uso de extratos vegetais no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) em mamoeiro (*Carica papaya* L.) / Elzivan Felix Ferreira, 2013.
53f: il. (algumas col.)

Orientador (a) Abel Rebouças São José.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação de Mestrado em Agronomia, Vitória da Conquista, 2013.

Referências: f. 48 - 53.

1. Controle biológico. 2. Extrato de vegetais - Uso 3. Graviola e Erva Cidreira - Controle e doenças. 4. Fitotecnia - Tese. I. São José, Abel Rebouças. II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós- Graduação de Mestrado em Agronomia. III. T.

CDD:634.651

Catálogo na fonte: Cristiane Cardoso Sousa / Cientista da
Informação UESB – Campus Vitória da Conquista-BA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
Área de Concentração em Fitotecnia

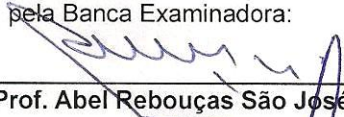
Campus de Vitória da Conquista - BA

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “USO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) EM MAMOEIRO (*Carica papaya* L.)”

Autor: Elzivan Felix Ferreira

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, pela Banca Examinadora:

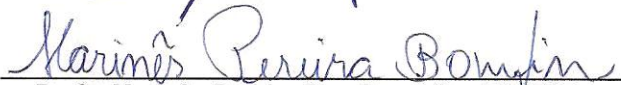


Prof. Abel Rebouças São José, D.Sc., UESB

Presidente



Prof. Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, D.Sc., UESB



Profa. Marinês Pereira Bomfim, D.Sc., FAJNOR

Data de realização: 28 de Fevereiro de 2013.

Estrada do Bem Querer, Km 4 – Caixa Postal 95 – Telefone: (77) 3425-9383 – Fax: (77)
3424-1059 – Vitória da Conquista – BA – CEP: 45031-900
e-mail: ppgagronomia@uesb.edu.br

À minha família, aos colegas, funcionários e alunos do Colégio Estadual Fernando Presídio, que sempre me apoiaram e contribuíram na realização do curso.

Com carinho dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, por possibilitarem a realização deste projeto de pesquisa;

Ao professor Dr. Abel Rebouças São José, pela orientação e ensinamentos prestados durante o curso;

Aos demais professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, pelos conhecimentos transmitidos durante o mestrado;

Aos colegas de turma, pelos momentos de aprendizagem e descontração durante o curso;

Ao colega e amigo John Porto, pela colaboração durante toda a fase de análise e interpretação dos dados da pesquisa;

Aos funcionários da Biofábrica da UESB, em especial, a Jailson Silva pela colaboração e ajuda nos experimentos;

Enfim, a todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização deste projeto, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

FERREIRA, E. F. Uso de extratos vegetais no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) em mamoeiro (*Carica papaya* L.). Vitória da Conquista-Bahia: UESB, 2013. 53p. (Dissertação - Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia)*

Diversas alternativas vêm sendo estudadas e utilizadas no controle de doenças de plantas, no intuito de suprir as necessidades dos produtores e consumidores no desejo em reduzir o uso de agrotóxicos. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade de extratos vegetais de *Azadirachta indica* A. Juss., *Annona muricata* L. e de *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown. no controle da antracnose causada por *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *in vitro*. O experimento foi conduzido na UESB, na Biofábrica – Pesquisa e Produção de Microrganismos, *campus* de Vitória da Conquista, Bahia, Brasil. Extratos aquosos de folhas de graviola e erva cidreira, e extratos aquosos de sementes de nim e graviola foram usados visando a inibição do crescimento micelial do patógeno causador da antracnose em frutos de mamão. As folhas, previamente desidratadas à sombra e trituradas em moinho de facas para obtenção de um pó fino, e os extratos de sementes foram preparados utilizando-se sementes previamente desidratadas à sombra e trituradas em almofariz com pistilo. Em seguida, o material vegetal foi diluído em 150 mL de água destilada em recipientes de polietileno com tampa, durante um período de 24 horas. Para a determinação da atividade antifúngica, foram utilizadas placas de Petri contendo meio BDA com extratos de folhas e sementes nas concentrações de 40g.L⁻¹ (4%), 60g.L⁻¹ (6%) e 80g.L⁻¹ (8%), autoclavados por 25 min a 125°C. Como controle, foram utilizadas placas de Petri contendo meio BDA sem adição de extratos. As placas com os meios foram inoculados com um disco de 10 mm contendo o isolado fúngico (*Colletotrichum gloeosporioides*) e mantidas em incubadora B.O.D. a uma temperatura de 25±1°C e fotoperíodo de 12 horas por um período de nove dias. A atividade antifúngica dos extratos foi mensurada mediante a medição do crescimento micelial das colônias a cada três dias. O delineamento adotado foi o DIC em esquema fatorial (3x3x3) com quatro repetições nos dois experimentos. Os dados foram submetidos à análise de variância e ao teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico ASSISTAT 7.6. Os resultados obtidos indicam uma maior inibição ao crescimento micelial do patógeno com o uso dos extratos de folhas de erva cidreira e de sementes de graviola.

Palavras-chave: Controle biológico, graviola, nim e erva cidreira.

* Orientador: Abel Rebouças São José, D.Sc., UESB.

ABSTRACT

FERREIRA, E. F. Use of plant extracts in the control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) in papaya (*Carica papaya* L.). Vitória da Conquista-Bahia: Southwest State University of Bahia, 2013. 53p. (Dissertation – Masters in Agronomy, Concentration area in Phytotechny)*

Several alternatives have been studied and used in the control of plant diseases, in order to achieve the needs of producers and consumers desiring to reduce the use of pesticides. Thus, the objective of this study was evaluating the activity of plant extracts *Azadirachta indica* A Juss., *Annona muricata* L. and *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown. in controlling anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. *in vitro*. The experiment was conducted in UESB, at the Biofactory - Research and Production, *campus* of Vitória da Conquista city, Bahia State, Brazil. Aqueous extracts of leaves of soursop leaves and lemongrass, and aqueous extracts of neem seeds and soursop were used to inhibit micelial growth of pathogen of anthracnose from papaya fruits. The leaves, previously dehydrated in shade and milled in the shadow knife mill to obtain a fine powder and seed extracts were prepared using the seeds previously dehydrated in shade and ground mortar with pistil. Then, the plant material was diluted in 150 mL of distilled water in polyethylene containers, during a period of 24 hours. To determine the antifungal activity Petri dishes containing PDA medium with extracts of leaves and seeds at concentrations of 40g.L⁻¹ (4%), 60g.L⁻¹ (6%) and 80g.L⁻¹ (8%) autoclaved for 25 minutes at 125 °C. As a control, Petri dishes containing the media were inoculated with a 10 mm disc media containing the fungal isolate (*Colletotrichum gloeosporioides*) and maintained in an incubator BOD at a temperature of 25 ± 1°C and photoperiod of 12 h during nine days of incubation. The antifungal activity of the extracts was determined by measuring the mycelial growth of colonies every three days. The experimental design was CRD in factorial (3x3x3) with four repetitions in both experiments. Data were subjected to ANOVA, Tukey test at 5% probability using the statistical program ASSISTAT 7.6. The results suggest inhibitory action of the leaf extract of lemongrass and the seed extract of soursop.

Keywords: Biological control, soursop, neem and lemongrass.

* Advisor: Abel Rebouças São José, D.Sc., UESB.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais países produtores de mamão em 2010.	17
Tabela 2 - Principais estados produtores de mamão em 2010.	17
Tabela 3 - Crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz. em meio de cultura BDA com extratos aquosos de folhas de graviola e erva cidreira a 4%, 6% e 8%, no período de nove dias de avaliação. Vitória da Conquista, Bahia, 2012.	40
Tabela 4 - Crescimento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz. em meio de cultura BDA com extratos aquosos de sementes de nim e graviola a 4%, 6% e 8%, no período de nove dias de avaliação. Vitória da Conquista, Bahia, 2012.	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Plantio de <i>Azadirachta indica</i> . Jequié, 2012.	25
Figura 2 - Flores e frutos de <i>A. indica</i> . Jequié, 2012.	25
Figura 3 - <i>Annona muricata</i> L. Jequié, 2012.	29
Figura 4 - Botão floral de <i>A. muricata</i> L. Jequié, 2012.	29
Figura 5 - Fruto de <i>Annona muricata</i> L. Jequié, 2012.	30
Figura 6 - Semente de <i>Annona muricata</i> L. Jequié, 2012.	30
Figura 7 - <i>Lippia alba</i> (Mill) N. E. Brown. Jequié, 2012.	32
Figura 8 - Fruto do mamão contaminado com o fungo <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz. Vitória da Conquista, 2012.	35
Figura 9 - Tecido do fruto do mamão contaminado com o fungo <i>C. gloeosporioides</i> Penz. Vitória da Conquista, 2012.	35
Figura 10 - Colônia de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz. Vitória da Conquista, 2012.	36
Figura 11 - Repicagem de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz. Vitória da Conquista, 2012.	36
Figura 12 - Folhas de erva cidreira desidratadas (A) e folhas de erva cidreira trituradas (B). Vitória da Conquista, 2012.	37
Figura 13 - Sementes de nim inteira (A) e sementes de nim trituradas (B). Vitória da Conquista, 2012.	38

- Figura 14** - Sementes de graviola inteira (A) e sementes de graviola trituradas (B). Vitória da Conquista, 2012. 38
- Figura 15** - Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. em meio de cultura BDA com extratos aquosos de folhas de graviola e erva cidreira a 4%, 6% e 8% aos três, seis e nove dias de avaliação. Vitória da Conquista, Bahia, 2012. 42
- Figura 16** - Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. em meio de cultura BDA com extratos aquosos de sementes de nim e graviola a 4%, 6% e 8% aos três, seis e nove dias de avaliação. Vitória da Conquista, Bahia, 2012. 46

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1 Descrição Botânica da Cultura do Mamão	15
2.2 Principais Enfermidades em Pós-Colheita em Mamão	18
2.3 Uso de Extratos Vegetais no Controle Fitossanitário	20
2.4 Uso de Extratos de <i>Azadirachta indica</i> A. Juss.	24
2.5 Uso de Extratos de <i>Annona sp.</i>	27
2.6 Uso de Extratos de <i>Lippia alba</i> (Mill) N. E. Brown.	31
3 MATERIAIS E MÉTODOS	33
3.1 Isolamento de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz.	34
3.2 Preparo dos Extratos Vegetais	37
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
4.1 Uso de extratos aquosos de folhas de graviola e erva cidreira no controle da antracnose	39
4.2 Uso de extratos aquosos de sementes de nim e graviola no controle da antracnose	43
5 CONCLUSÕES	47
6 REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

A expansão urbano-industrial desencadeada nas décadas de 60 a 80, promovida pelo crescimento populacional exagerado e pela busca desenfreada pelo desenvolvimento agroindustrial no país, proporcionou a ocupação e exploração dos recursos naturais nos diversos sistemas vegetais brasileiros. A preocupação do governo brasileiro com a utilização de seus recursos naturais aumentou a partir da década de 80, certamente em razão do agravamento de seus problemas ambientais e/ou por conter melhor nível de informação sobre eles (LOPES, 2002).

A preocupação da sociedade com o impacto das práticas agrícolas no ambiente e a contaminação com pesticidas vem alterando o cenário agrícola, resultando na presença de segmentos de mercado que visam à aquisição de produtos diferenciados (MORANDI e BETTIOL, 2009). Essas pressões têm levado ao desenvolvimento de sistemas de cultivo mais sustentáveis e, portanto, menos dependentes do uso de pesticidas.

O conceito de agricultura sustentável envolve o manejo adequado dos recursos naturais, evitando a degradação do ambiente de forma a permitir a satisfação das necessidades humanas das gerações atuais e futuras (BIRD e outros, 1990).

Dentre as alternativas de controle, o biológico é o que vem sendo mais estudado nos últimos anos, tendo apresentado avanços significativos na agricultura sustentável. Entretanto, diversas alternativas de controle vêm sendo estudadas e utilizadas por pequenos agricultores (BETTIOL 2001).

A transição da agricultura convencional para uma agricultura sustentável é um grande desafio. Nesse sentido, na resolução dos problemas relacionados com a ocorrência de pragas em níveis de danos econômicos, devem ser

utilizadas práticas agrícolas sustentáveis que priorizem a mínima dependência externa de insumos, o aumento da biodiversidade, a conservação do solo e da água, a manutenção dos inimigos naturais, baixo risco ambiental e toxicológico, mantendo o sistema agrícola equilibrado e com boa produtividade por um longo período de tempo (MICHEREFF e BARROS, 2001).

No Brasil, apesar do reconhecido avanço em termos de modelos de produção e de alternativas de controle fitossanitário, adotados em diferentes regiões do país, é irrefutável o passivo decorrente de práticas de produção convencional, bem como a ausência de controle fitossanitário nas áreas de produção. Dentre essas práticas, o controle químico constitui a espinha dorsal da agricultura moderna. Além de serem responsáveis por grande parte dos custos de produção, os pesticidas podem ter um efeito danoso sobre o ambiente e sobre a saúde humana (MICHEREFF e BARROS, 2001). A utilização de produtos alternativos e de menor toxidez seria uma grande alternativa para o controle de pragas.

Estudos utilizando extrato vegetal vêm sendo realizados no controle de pragas e doenças de plantas, o que representa uma alternativa viável na proteção das lavouras, principalmente, no intuito de suprir as necessidades dos pequenos produtores e o desejo da sociedade em reduzir o uso de defensivos agrícolas (MORAIS e outros, 2009).

A exploração da atividade biológica de compostos secundários, presentes no extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais, pode se constituir, ao lado do controle biológico e da indução de resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo (SCHWAN-ESTRADA, 2009).

Os fungos constituem um grupo numeroso e bastante diversificado de organismos, sendo muitos deles responsáveis por grandes prejuízos econômicos das plantas cultivadas, tanto na quantidade e qualidade da produção, quanto nos

custos de produção, decorrentes dos investimentos feitos no controle e no tratamento das enfermidades ocasionadas (RESENDE e CASTRO, 2000).

Segundo a FAO (2013), a produção mundial de mamão representa 10% da produção mundial de frutas tropicais, girando em torno de 11 milhões de toneladas, das quais 37% são produzidas na América Latina e Caribe. Os principais produtores mundiais são a Índia, Brasil, Indonésia, República Dominicana, Nigéria e México.

O mamão é uma fruta caracterizada por ser afetada por uma série de moléstias ou podridões que surgem após a colheita, devido a sua baixa consistência e por ser desprovido de uma casca com maior resistência que impeça a penetração de microrganismos (TAVARES, 2004). Segundo Dantas e outros (2003), em frutos de mamão, os fitopatógenos causam consideráveis perdas pós-colheita, podendo atingir 75% na fase de comercialização.

A antracnose causada por *Colletotrichum spp.* e a podridão do pedúnculo, causada por *Phoma sp.*, são classificadas como sendo as principais doenças em pós-colheita da cultura do mamoeiro (REZENDE e FANCELLI, 1997).

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade de extratos vegetais de *Annona muricata* L. (graviola), *Azadirachta indica* A. Juss. (nim) e *Lippia alba* (Mill) N. E. Brown. (erva cidreira) no controle do crescimento micelial *in vitro* do fungo *Colletotrichum gloesporioides* Penz. causador da antracnose, extraído de frutos de mamão.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Descrição Botânica da Cultura do Mamão

O mamão, pertencente à família Caricaceae, originário da América Tropical, na faixa que vai do noroeste da América do Sul e sul do México, sendo que, de um total de 21 espécies do gênero *Carica*, a mais cultivada comercialmente consiste na *Carica papaya* L. (OLIVEIRA e outros, 1994). O Brasil encontra-se entre os maiores produtores de mamão, com um volume produzido em torno de 45% da produção mundial nos últimos anos, com destaque para os estados da Bahia e Espírito Santo. As variedades mais cultivadas no Brasil são aquelas do grupo Solo e os híbridos do grupo Formosa, sendo que, nas plantações para exportação, prevalece a variedade Golden do grupo Solo (JACOMINO; BRON; KLUGE, 2003).

O mamoeiro é considerado como uma das fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. No Brasil, a região nordeste se destaca pela sua produtividade e qualidade dos frutos. Seus frutos, conhecidos como mamão ou papaia são excelentes fontes de cálcio, pró-vitamina A e vitamina C, por isso são amplamente utilizados em dietas alimentares (SERRANO e CATTANEO, 2010). De crescimento rápido e ciclo curto, o mamoeiro, geralmente, apresenta-se com caule indiviso, que mede aproximadamente 30 cm de diâmetro na base, crescendo entre 3 a 10 metros, ereto e marcado por grandes cicatrizes foliares (MEDINA, 1989). Em alguns casos, o mamoeiro pode apresentar-se com um caule bifurcado em decorrência de fatores ambientais, tais como ventos fortes e chuvas de granizo.

O sistema radicular é superficial, possuindo raízes ramificadas e pouco abundantes. As folhas alternas, grandes, recortadas, lobadas, com pecíolo longo e cilíndrico, geralmente de 50 a 70 cm de comprimento. A lâmina foliar é oval ou orbicular com até 70 cm de diâmetro, 7 a 13 nervuras, palmatilobadas, geralmente reúnem-se em grupo, no alto do tronco, formando a chamada "coroa" terminal (MEDINA, 1989).

O mamoeiro apresenta basicamente três tipos de flores, que dão origem às plantas do sexo masculino, feminino e hermafrodita (MARIN e outros, 1989). Os frutos das árvores do sexo feminino são esféricos; as árvores hermafroditas, considerando que a forma dos frutos é afetada por fatores ambientais, principalmente temperatura, modificam a morfologia floral durante o desenvolvimento precoce da inflorescência, apresentando frutos ovais. Quando maduros, têm casca lisa, amarela ou alaranjada. Dependendo do cultivar, a espessura da polpa varia de 1,5 a 4 cm e a cor pode ser do amarelo-pálido ao vermelho, contendo numerosas sementes de coloração cinzento-negro, esféricas de 5 mm de diâmetro (FARIAS e outros, 1998).

Nos estados produtores, em decorrência das condições climáticas, a produção ocorre durante todo o ano, sendo de fundamental importância para a qualidade dos frutos que a colheita seja realizada no ponto adequado de maturação, exigindo cuidados como a escolha do ponto certo de maturação do fruto em função do tempo em que o mesmo chegará até o consumidor final (SOUZA, 2007).

Atualmente, o Brasil destaca-se como o segundo maior produtor mundial de mamão (*Carica papaya* L.), com destaque para os estados da Bahia, Espírito Santo e Ceará como os maiores produtores de mamão, contribuindo com o aumento das exportações brasileiras de frutas, conforme dados apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Tabela 1 – Principais países produtores de mamão em 2011.

PAÍS	ÁREA (ha)	PRODUÇÃO (t)	RENDIMENTO (t/ha)
Índia	104.307	4.180.080	40,07
Brasil	35.531	1.854.340	52,19
Indonésia	11.055	958.251	86,68
Rep. Dominicana	2.487	891.731	358,56
Nigéria	94.000	705.000	7,50
Outros	174.134	3.249.249	18,66
TOTAL	421.514	11.838.651	28,09

Fonte: FAO, 2013.

Tabela 2 – Principais estados produtores de mamão em 2011.

ESTADOS	ÁREA (ha)	PRODUÇÃO (t)	RENDIMENTO (t/ha)
Bahia	15.264	928.035	60,80
Espírito Santo	7.069	560.576	79,30
Ceará	2.612	112.579	43,10
Rio Grande do Norte	1.991	69.410	34,86
Minas Gerais	1.364	44.948	32,95
Outros	7.231	138.795	19,19
BRASIL	35.531	1.854.343	52,19

Fonte: IBGE - Produção Agrícola Municipal, 2011.

2.2 Principais Enfermidades em Pós-Colheita em Mamão

As doenças que ocorrem na pós-colheita em frutos são responsáveis por grandes perdas de produção, em muitos casos, superiores a 50%, antes de chegar à mesa do consumidor, e os frutos que chegam, apresentam uma qualidade inferior à desejada pelo consumidor (TAVARES e SOUZA, 2005).

As frutas frescas, por apresentarem elevado teor de umidade e altas taxas respiratórias, têm sua vida útil reduzida durante o período pós-colheita. Essas características resultam em perdas decorrentes da falta de comercialização ou de consumo do produto em tempo hábil, gerando desvantagens ao seu manuseio após a colheita (CHITARRA e CHITARRA, 2005).

Em mamão, as doenças pós-colheita são responsáveis por perdas durante o processo de armazenamento e transporte do produto. Estima-se que os prejuízos são da ordem de 10 a 40% em transportes terrestres e de 5 a 30% em transportes aéreos. Porém, tais perdas podem variar de 1 a 93%, dependendo do manejo pós-colheita e processos de acondicionamento. As principais doenças pós-colheita do mamão são a antracnose, provocada por *Colletotrichum gloeosporioides*, e a podridão do pedúnculo, causada por *Phoma caricae-papaya*. Além destas, outras podridões causadas por *Lasiodiplodia*, *Alternaria*, *Fusarium*, *Stemphylium* e *Rhizopus* podem aparecer. Todas estas doenças pós-colheita, exceto a podridão causada por *Rhizopus*, podem ser iniciadas a partir de infecções de campo (RESENDE e MARTINS, 2005).

Em geral, os agentes causadores de podridões em pós-colheita apresentam características comuns, que são a capacidade de se estabelecerem no fruto no estágio imaturo e permanecerem em estado latente até que haja condições favoráveis para que o processo de infecção ocorra (NERY-SILVA e outros, 2001).

A antracnose nos frutos de mamão, causada pelo fungo *C. gloeosporioides* Penz., apresenta sintomas que, normalmente, são percebidos na fase avançada de maturação dos frutos, dessa forma, recomenda-se que o controle seja efetuado antes da fase de maturação (TAVARES e SOUZA, 2005).

O fungo *Colletotrichum sp.*, causador da antracnose em frutíferas, pertence ao Reino Fungi, Filo Ascomycota, Classe Ascomycetes, Ordem Phyllachorales, Família *Glomerellaceae*, Gênero *Glomerella (Colletotrichum)*, Espécie: *G. cingulata* (Stonem.) Spauld e Schrenk, tendo como estágio anamórfico a espécie *C. gloeosporioides* Penz. (AGRIOS, 2004).

O *C. gloeosporioides* Penz. é, na verdade, um complexo de espécies causadoras de doenças de pré e pós-colheita em uma gama de hospedeiros de espécies, gêneros e famílias diferentes, incluindo-se o mamão e muitas outras frutas tropicais e subtropicais (BAILEY e JEGER, 1992).

As colônias de *C. gloeosporioides* apresentam formas variáveis, com coloração variando de cinza clara a cinza escura e micélio aéreo. Os conídios são formados em massas de cor salmão, retos, cilíndricos, de ápice obtuso, base truncada e dimensões que variam entre 12 a 17 x 3,5 a 6,0 mm, e liberados quando os acérvulos encontram-se úmidos. Eles são geralmente disseminados pelo respingo das chuvas, pelo vento, por insetos e por meio de ferramentas contaminadas. Esta espécie é muito heterogênea em meio de cultura, especialmente quanto às características miceliais (TAVARES, 2004).

A antracnose, doença causada por espécies de *Colletotrichum* ou seu fungo Teleomorfo a *Glomerella*, é uma doença muito comum e destrutiva em numerosas culturas. Embora a antracnose seja grave em todos os lugares, causa perdas mais significativas nas regiões tropicais e subtropicais (AGRIOS, 2004). A severidade da doença depende das condições ambientais, sendo menos severa em períodos secos e temperaturas muito baixas. O fungo causal da antracnose penetra através da cutícula e forma uma infecção latente no fruto imaturo.

O controle químico de doenças de plantas é considerado, em muitos casos, a única medida eficiente e economicamente viável de garantir produtividade e qualidade visadas pela agricultura moderna (KIMATI, 1995). De acordo com Ventura e outros (2003), o principal tratamento indicado para o controle de doenças pós-colheita em mamão, causada por *C. gloeosporioides*, é o tratamento hidrotérmico associado à aplicação de ceras e fungicidas para garantir uma maior sobrevida ao fruto.

O surgimento de microrganismos tolerantes aos defensivos químicos empregados no controle da antracnose é um dos fatores a ser considerado, uma vez que esse fato resulta na diminuição da eficiência dos mesmos. Existe, portanto, uma demanda crescente por produtos de controle alternativo de doenças fúngicas, visando diminuir o uso de defensivos agrícolas.

2.3 Uso de Extratos Vegetais no Controle Fitossanitário

Os produtos naturais vêm sendo utilizados em comunidades tradicionais por pequenos agricultores até a metade do século XIX para o controle de pragas de plantas. Dentre estes, os produtos à base de *Chrysanthemum cinerariaefolium*, *C. roseum*, *C. coccineum*, *Derris spp.*, *Lonchocarpus spp.* e *Nicotiana sp.* eram os mais utilizados, principalmente, como inseticidas e fungicidas (BOYCE, 1974).

Grandes áreas de cultivo de plantas medicinais usadas como defensivos naturais foram destruídas e/ou abandonadas durante a Segunda Guerra Mundial, ocasionando uma busca por outros produtos que pudessem substituí-los. A fim de minimizar as desvantagens dos produtos naturais, que apresentava baixa estabilidade e alto custo de produção do material vegetal originado do cultivo,

foram desenvolvidos os piretroides sintéticos, moléculas que possuíam o esqueleto básico das piretrinas, principais componentes do piretro, mas que foram modificadas visando a maior estabilidade, quando utilizadas no campo. Assim, dava-se início à fase do uso de produtos sintéticos para o controle fitossanitário, o que aparentava ser a solução para a agricultura mundial (SAITO e LUCCHINI, 1998).

Após a aplicação dos produtos sintéticos, alguns problemas começaram a surgir. Os produtores perceberam que a utilização dos agrotóxicos não podia garantir o controle de pragas e de fitopatógenos por um longo período de tempo. Quando os produtos perdiam a eficiência, passava-se a utilizar novos produtos, dando início a um novo ciclo de desequilíbrios na cultura (MARICONI, 1981).

A utilização de defensivos sintéticos mais seletivos, com menor espectro de ação, bem como menor persistência no ambiente, marcou o início do processo de conscientização de que era melhor reduzir a população de patógenos, do que a tentativa de erradicação dos mesmos e a conseqüente contaminação do ambiente e dos alimentos (SAITO e LUCCHINI, 1998).

Outro fator importante que contribuiu para o interesse pela utilização de produtos derivados de princípios ativos naturais foi o avanço da agricultura orgânica e a exigência da sociedade por alimentos livres de agrotóxicos. Assim, surgiu a necessidade de resgatar a utilização de produtos fitossanitários, produzidos a partir de substâncias naturais, bem como a utilização do controle biológico de pragas (MORAIS, 2009).

Uma grande diversidade de plantas produz inúmeros compostos provenientes da biossíntese de metabólitos secundários, realizada por rotas metabólicas específicas do organismo, ocorrendo uma estreita relação entre essas rotas e aquelas responsáveis pela síntese de metabólitos primários, que podem ser utilizados no controle fitossanitário. Essas plantas podem ser utilizadas como matéria prima para o desenvolvimento de novos defensivos

agrícolas ou servirem como modelo para o desenvolvimento de novos produtos (ROZWALKA, 2003; TAIZ e ZEIGER, 2006).

Com algumas propriedades específicas, esses metabólitos secundários agem, por exemplo, na defesa da planta contra diversos patógenos e pragas e na atração ou repulsão diante de outros organismos. Essas propriedades são dependentes de uma série de fatores inerentes às plantas, como órgão utilizado, idade e estágio vegetativo. Fatores do ambiente, como o pH do solo, bem como a estação do ano e diferentes tipos de estresse também devem ser observados. A eficiência dos extratos no controle de doenças de plantas depende, muitas vezes, do período de coleta da planta, das condições de armazenamento, do tipo de patógeno a ser controlado e dos processos tecnológicos utilizados na obtenção e manipulação do extrato (SILVA e outros, 2006).

As plantas tropicais constituem-se em um grande reservatório de substâncias como alcaloides, aminas, glicosídeos cianogênicos, glicosinolatos, monoterpênicos, lactonas sesquiterpênicas, diterpenoides, saponinas, limonoides, cucurbitacinas, carotenoides, fenóis simples, flavonoides, quinonas e poliacetilenos que, originalmente, são empregadas em alguns casos na defesa das próprias plantas contra herbívoros que delas se servem (POTENZA, 2004).

O uso de extrato de plantas no controle de doenças de plantas vem sendo amplamente estudado, mas ainda continua sendo pouco utilizado na prática, exceção feita aos agricultores que praticam a agricultura orgânica e que utilizam normalmente esses extratos. Um dos motivos de seu baixo uso é a dificuldade em se obter os tecidos vegetais a serem processados e também o preparo propriamente dito do extrato.

A utilização de extratos de plantas depende, principalmente, da disponibilidade desses produtos no mercado. Caso isso não ocorra, a sua utilização ficará restrita apenas aos produtores de base orgânica. É importante salientar que esses extratos podem tanto serem produzidos diretamente pelos

agricultores, portanto, considerados como produtos alternativos, como serem utilizados para a síntese de um pesticida.

Ao colher-se uma planta medicinal, deve-se estar ciente de que fatores de ordem genética, ambiental e técnica influenciariam a síntese de princípios ativos, podendo ocorrer variações tanto na qualidade como na quantidade de complexos químicos. Plantas da mesma espécie, cultivadas em diferentes localidades, normalmente, possuem os mesmos componentes, mas as porcentagens em que estão presentes podem diferir (SILVA e outros, 2005).

Em um estudo realizado por Dharmendra e outros (2001), o uso de óleos essenciais extraídos de extrato de limão no controle de *Cândida albicans*, *Microsporium gypseum*, *Sporothrix schenckii* e *Aspergillus niger* apresentou alta atividade antifúngica para todos os organismos testados, enquanto que a aplicação do óleo de citronela demonstrou-se eficiente apenas no controle de *Microsporium gypseum*.

Os pequenos agricultores e os produtores de agricultura alternativa têm usado, de forma empírica, os extratos de plantas para o controle de doenças e pragas, por considerar que esses produtos apresentam uma menor toxicidade, os quais são, muitas vezes, manipulados de forma caseira e pulverizados nas lavouras sem se preocupar com os mecanismos de ação, os métodos de controle, os métodos de aplicação e suas respectivas concentrações (SILVA e outros, 2006).

Uma grande quantidade de plantas vem sendo estudadas nas últimas décadas visando o controle alternativo de pragas. As plantas das famílias Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Annonaceae, Lamiaceae e Canellaceae são consideradas as mais promissoras. Seus compostos biossintéticos apresentam ação inseticida e podem ser encontrados em várias partes da planta (JACOBSON, 1989). Dentre estas plantas medicinais, pode-se citar uma grande quantidade de plantas com atividade inseticida: arruda (*Ruta graveolens*);

alamanda (*Allamanda nobilis*); alecrim (*Rosmarinus officinalis*); alfavaca (*Ocimum basilicum*); carqueja (*Baccharis trimmer*); capim-limão (*Cymbopogon citratus*); fruta-do-conde (*Annona squamosa*); espirradeira (*Nerium oleander*); hortelã (*Mentha piperita*) (MOREIRA e outros, 2006).

2.4 Uso de Extratos de *Azadirachta indica* A. Juss.

A *Azadirachta indica* A. Juss. é uma planta da família Meliaceae originária da Índia. Apresenta crescimento rápido, atingindo mais de 10 metros de altura em poucos anos. O sistema radicular pode atingir até 15 m de profundidade. Desenvolve-se bem em regiões semiáridas, por ser resistente à seca e suportar temperaturas elevadas (Figura 1). As folhas verde-escuras são do tipo compostas, imparipenadas e sem estípulas. As flores são de coloração branca e aromática, encontra-se reunidas em inflorescências actinomórficas, pentâmeras e hermafroditas. O fruto tipo baga, ovalada com 1,5 a 2,0 cm de comprimento, quando maduro, apresenta polpa amarelada e casca (tegumento) branca dura, contendo uma semente, raramente duas (Figura 2). Os primeiros frutos são produzidos entre 2 e 5 anos após o plantio (NEVES e outros, 2003).

Em decorrência da presença de diversas substâncias com atividade biológica, como a azadiractina, meliantriol, limoneno, odoratone e outros triterpenoides, nas folhas, cascas, frutos e sementes, principalmente pela sua atividade inseticida, baixo custo, menos poluentes e com baixo poder residual, quando comparados com os produtos sintéticos, apresentando baixo risco de intoxicação para mamíferos e aves, o nim tem se destacado entre as plantas mais utilizadas com ação inseticida (QUINTELA e PINHEIRO, 2004).



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 1 – Plantio de *Azadirachta indica* A. Juss. Jequié, 2012.



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 2 – Flores e frutos de *A. indica* A. Juss. Jequié, 2012.

As espécies da família Meliaceae apresentam uma característica em comum, que é a presença de triterpenos oxigenados, conhecidos como meliacinas. Dentre os triterpenos, inclui-se o mais promissor agente antialimentar descoberto até agora, o azadiractina, que está presente nas folhas, frutos e sementes, e que foi isolado, inicialmente, a partir do nim. Outros compostos, como os triterpenoides, geduninas, nimbinm, liminoides, entre outras substâncias, agem juntamente, aumentando a ação inseticida (POTENZA, 2004).

A azadiractina é considerada o mais potente dos limonoides ou tetranortriterpenoides presente no nim; atua na inibição da alimentação dos insetos, afeta o desenvolvimento das larvas e atrasa seu crescimento, reduz a fecundidade e fertilidade dos adultos, altera o comportamento, causa diversas anomalias nas células, na fisiologia dos insetos e causa mortalidade de ovos, larvas e adultos (MARTINEZ, 2002).

Conforme estudos desenvolvidos por Carneiro e outros (2007), com o uso de extratos de sementes de nim, no controle do oídio, observou-se eficiência, quando aplicado 24h após a inoculação do fungo tão quanto o fungicida comercial. O extrato de sementes de nim reduziu os sintomas de oídio em aproximadamente 82% na aplicação preventiva e em 98% na pulverização realizada após a inoculação. A menor eficiência apresentada na aplicação preventiva em relação à aplicação realizada após a inoculação, provavelmente, deve-se à rápida volatilização dos princípios ativos presentes no extrato das sementes de nim.

Govindachari e outros (1998), estudando a atividade antifúngica de terpenoides constituintes do óleo de nim, observaram que a azadiractina não afetou o crescimento de três fungos fitopatogênicos, enquanto que a salanina, nimbina, epoxiazadiradiona, deacetilnimbina e azadiradiona apresentaram diferentes níveis de controle. Esses cinco terpenoides, que foram eficazes no

controle de fungos, apresentaram maior ação quando em mistura do que quando testados isoladamente. Segundo Almeida e outros (2009), o extrato de nim propiciou efeito de inibição da germinação dos conídios de *Colletotrichum acutatum*, com relação ao tratamento controle.

Os dados referentes à atividade antimicrobiana do extrato de nim são ainda contrastantes. Volf e Steinhauer (1997) observaram que *Sclerotinia fuliginea* não foi controlado por extratos de folhas de nim, tendo o seu crescimento estimulado pela aplicação do extrato. Venturoso e outros (2011) observaram que o extrato de nim favoreceu o crescimento de *Fusarium solani*. Ferreira e outros (2009), em análises *in vitro* utilizando resíduos orgânicos de nim no controle de *Fusarium oxysporum* f .sp. *passiflorae*, perceberam que o extrato de nim a 4% foi o que mais inibiu o crescimento micelial do fungo da fusariose no maracujazeiro amarelo, quando comparados com o tratamento controle.

O uso de extratos de nim como controle alternativo de pragas ainda é bastante variável. Há registro de ação sobre mais de 300 espécies. A maior parte dos estudos foi desenvolvido em laboratórios, sendo necessários mais estudos para poder determinar, com maior segurança, quais pragas podem ser controladas, as doses e a frequência de aplicação do produto, bem como o comportamento do mesmo em campo (SCHMUTTERER, 1990).

2.5 Uso de Extratos de *Annona muricata* L.

A família Annonaceae apresenta uma distribuição predominantemente tropical e subtropical com aproximadamente 2500 espécies, distribuídas em cerca de 130 gêneros. Os gêneros mais comuns são *Annona*, *Guatteria*, *Xylopia*

e *Rollinia*. No Brasil, ocorrem 33 gêneros e cerca de 250 espécies. A *Annona squamosa* (ata ou fruta-do-conde) e a *Annona muricata* (graviola) são espécies originárias da América Central, frequentemente cultivadas no Brasil, em especial no Nordeste (SOUZA e LORENZI, 2005; RINALDI, 2007). É conhecida principalmente por seus frutos comestíveis, tais como a fruta do conde e a graviola, bem como o uso de algumas espécies fornecedoras de madeira própria para carpintaria e outras como medicinal (RINALDI, 2007).

A gravioleira apresenta porte arbóreo, com tamanho variando entre 4 e 8 metros, folhas alternas e dísticas, simples, sem estípulas, mais ou menos coriáceas e, em geral, aromáticas (Figura 3). A inflorescência é composta de uma única flor vistosa e bissexuada, actinomorfas; perianto amarelo, diferenciando em cálice e corola, com pétalas muito espessas; ovário súpero, carpelos e estames numerosos (Figura 4). O fruto é do tipo baga composta, fruto múltiplo e carnosos (Figura 5) (CARVALHO, 2001; SOUZA e LORENZI, 2005).

Além dos frutos, diversas partes da gravioleira são utilizadas na medicina tradicional por conta de suas propriedades diuréticas, antiespasmódicas, antiescorbúticas e adstringentes, além de fonte de cálcio. A casca e raízes da graviola são consideradas sedativas, hipotensivas além de apresentar efeitos no combate a tumores e propriedades calmantes. As sementes apresentam propriedades antihelmínticas, isto é, combate a verminoses. Diversos outros estudos científicos vêm sendo realizados em diversas regiões do mundo, e muitas propriedades anticancerígenas estão sendo detectadas (SÃO JOSÉ, 2003).



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 3 – *Annona muricata* L. Jequié, 2012.

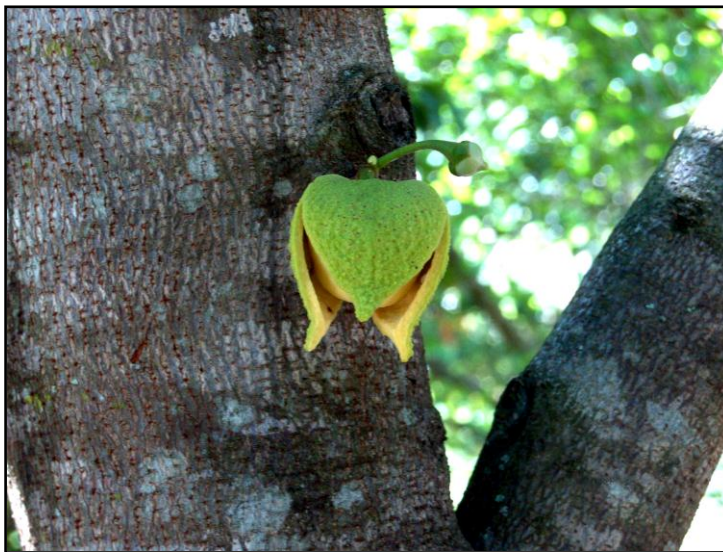


Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 4 – Botão floral de *A. muricata* L. Jequié, 2012.



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 5 – Fruto de *A. muricata* L. Jequié, 2012.



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 6 – Sementes de *A. muricata* L. Jequié, 2012.

2.6 Uso de Extratos de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown

A espécie *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown, pertencente à família Verbenaceae, é caracterizada como um arbusto aromático, medindo até 2m de altura, com ramos finos, esbranquiçados, arqueados e quebradiços. Folhas opostas, elípticas, de largura variável, com bordos serrados e ápice agudo. As flores encontram-se reunidas em inflorescências capituliformes de eixo curto (Fig. 5). Nessa família, encontra-se incluídas espécies ornamentais como *Petrea volubilis* (flor-de-são-miguel), *Duranta repens* (douradinha) e *Lantana camara* (cambarazinho), assim como outras espécies dos gêneros *Verbena* e *Stachytarpheta* (SOUZA e LORENZI, 2005).

Popularmente conhecida como erva cidreira, suas folhas são amplamente utilizadas como fitoterápica para dores abdominais, como digestivas, consumida na forma de chás ou infusões. O seu aroma está diretamente relacionado aos componentes dos óleos essenciais, decorrentes do metabolismo secundário, os quais podem, em função de diversos fatores ambientais, tais como: estações do ano, época de floração, idade da planta, quantidade de água circulante, resultante da precipitação, fatores geográficos e climáticos, variar qualitativa e quantitativamente. Esses compostos podem servir como matéria prima para a produção de novos produtos com finalidade fitossanitária (TAIZ e ZEIGER, 2006; MORAIS, 2009).

Segundo Silva e outros (2009), em estudos realizados com óleos essenciais de *Lippia citriodora* (lippia), *Lippia sidoides* (alecrim pimenta), concluíram que os mesmos inibiram em 100% o crescimento micelial do *C. gloeosporioides* e que os hidrolatos não foram eficientes no controle do crescimento micelial e/ou germinação do fungo. Costa e outros (2005), por sua

vez, encontraram alta concentração de timol e carvacrol ao óleo essencial de *Lippia sidoides* Cham., conferindo-lhes propriedades bactericida e fungicida.



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 7 – Inflorescência de *Lippia alba*. Jequié, 2012.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi conduzido na UESB, na Biofábrica – Pesquisa e Produção de Microrganismos, *campus* de Vitória da Conquista, Bahia, no período de março a outubro de 2012. Para a condução dos experimentos, foram utilizados extratos aquosos de folhas de graviola e erva cidreira, e extratos aquosos de sementes de nim e graviola, previamente selecionadas e em bom estado fitossanitário, coletadas entre 8 e 9 horas da manhã, para o controle do fungo fitopatogênico *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., em áreas de produção no município de Jequié, Bahia, nos meses de março a abril de 2012.

Para a determinação da atividade antifúngica de extratos de plantas, foi utilizada a espécie fúngica patogênica *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., obtida a partir de amostras de colônias recentes desprovidas de contaminação, oriundas de frutos de mamão, cultivadas e conservadas *in vitro* na Biofábrica.

O primeiro experimento foi realizado utilizando placas de Petri contendo meio BDA (Batata Dextrose Agar) e os extratos de folhas de graviola e erva cidreira nas concentrações de 40g.L⁻¹ (4%), 60g.L⁻¹ (6%) e 80g.L⁻¹ (8%), permanecendo em autoclave por 25 minutos a 125°C. No segundo experimento, foi avaliada a atividade antifúngica de extratos, mantidos em autoclave, de sementes de nim e graviola, nas mesmas concentrações do primeiro experimento, por meio de placas de Petri contendo meio BDA (Batata Dextrose Agar). Os meios foram retirados da autoclave após uma hora e, no estado líquido, adicionados nas placas (aproximadamente 25 mL). Depois de solidificado, em temperatura ambiente, o meio foi inoculado com um disco de 10 mm, contendo o isolado fúngico e vedada com papel filme.

Como controle, foram utilizadas placas de Petri contendo meio BDA autoclavado sem adição de extratos, inoculada com um disco de 10 mm

contendo o fungo patogênico nos dois experimentos. As placas foram mantidas em incubadora B.O.D. a uma temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, sendo avaliadas por um período de nove dias. A atividade antifúngica dos extratos foi mensurada mediante a medição do crescimento micelial das colônias de *Colletotrichum gloeosporioides*, com o auxílio de paquímetro digital a cada três dias.

Na análise estatística foi adotado o delineamento inteiramente casualizado, (DIC) em esquema fatorial $3\times 3\times 3$ (três tratamentos, três concentrações e três tempos) com quatro repetições, nos dois experimentos. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa estatístico ASSISTAT 7.6.

3.1 Isolamento de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.

A espécie fúngica foi obtida a partir de fragmentos ($\pm 1,0\text{cm}$) da casca do fruto de mamão naturalmente contaminado com o fungo. Os fragmentos foram cortados e mergulhados em solução de hipoclorito de sódio a 2% por 1 minuto e, em seguida, foram transferidos para uma solução de álcool a 70% por 1 minuto. Após a desinfecção, os fragmentos foram lavados com água destilada, esterilizados e transferidos sob condições assépticas para as placas de Petri de 90 mm de diâmetro, contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Agar), esterilizado em autoclave por 25 min a uma temperatura de 125°C , sendo cultivados por 10 dias em BOD à temperatura de $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Após o crescimento da colônia, procedeu-se a repicagem do fungo (Figura 8 a 11).



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 8 – Fruto do mamão contaminado com o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Vitória da Conquista, 2012.



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 9 – Tecido do fruto do mamão contaminado com *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Vitória da Conquista, 2012.



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 10 – Colônia de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Vitória da Conquista, 2012.



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 11 – Repicagem de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Vitória da Conquista, 2012.

3.2 Preparo dos Extratos Vegetais

Os extratos brutos de folhas de graviola e erva cidreira foram preparados utilizando-se 300g de folhas totalmente estendida de plantas adultas coletadas em áreas de produção. As folhas foram desidratadas à sombra por quatro dias e trituradas em moinho de facas para obtenção de um pó fino. Os extratos de sementes de nim e graviola foram preparados utilizando-se 300g de sementes desidratadas à sombra por quatro dias e trituradas em almofariz com pistilo, a fim de separar as amêndoas. Em seguida, o material vegetal foi diluído em 150 mL de água destilada nas concentrações de 10g, 15g e 20g, respectivamente, em recipientes de polietileno com tampa, por um período de 24 horas, posteriormente coado em gaze estéril e, em seguida, adicionado ao meio BDA (Batata Dextrose Agar) nas concentrações de 4%, 6% e 8%. Posteriormente, permaneceram em autoclave por 25 minutos a 125°C (Figuras 12 a 14).



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 12 - Folhas de erva cidreira desidratada (A) e folhas de erva cidreira trituradas (B). Vitória da Conquista, 2012.



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 13 - Sementes de nim (A) e sementes de nim trituradas (B). Vitória da Conquista, 2012.



Foto: FERREIRA, E.F., 2012.

Figura 14 - Sementes de graviola (A) e sementes de graviola trituradas (B). Vitória da Conquista, 2012.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Extratos aquosos de folhas de graviola e erva cidreira no controle da antracnose.

De acordo os resultados apresentados na Tabela 3, houve diferença significativa para os extratos aquosos de folhas de graviola e erva cidreira aos três dias de avaliação. Observa-se que os extratos utilizados apresentaram melhor efeito inibitório no crescimento micelial do fungo patogênico, independente da concentração utilizada, em comparação ao tratamento controle. Entre os extratos utilizados, houve diferença significativa apenas na concentração de 8%, quando o extrato de erva cidreira apresentou um efeito de inibição superior ao extrato de graviola.

Aos seis e aos nove dias de avaliação, houve diferença significativa entre os tratamentos, apenas na concentração de 8%, na qual o extrato aquoso de folhas de erva cidreira apresentou maior eficiência na inibição do crescimento micelial, quando comparado com o extrato aquoso de folhas de graviola. Assim, observou-se uma redução do potencial de inibição dos extratos de ambas as espécies, a partir do sexto dia, em todas as concentrações utilizadas, excetuando-se apenas o melhor efeito da erva cidreira a 8%, tanto ao sexto quanto no nono dia de avaliação.

Para o tratamento com extrato de folhas de *Lippia sidoides*, Mota e outros (2002) obtiveram resultados significativos no controle de *Lasiodiplodia theobromae*. O efeito inibidor do extrato foliar aumentou à medida que se elevou a dose do produto, demonstrando ação fungicida do extrato. Os resultados encontrados neste trabalho, para extrato de erva cidreira em maior concentração (8%) aos seis e nove dias, assemelham-se aos dos referidos autores.

Tabela 3 – Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. em meio de cultura BDA com extratos aquosos de folhas de graviola e erva cidreira a 4%, 6% e 8%, no período de nove dias de avaliação. Vitória da Conquista, Bahia, 2012.

MÉDIAS (diâmetro em mm)*									
TRAT.	3 dias			6 dias			9 dias		
	4%	6%	8%	4%	6%	8%	4%	6%	8%
Graviola	14.625bA	15.125bA	15.750bA	36.600aA	40.550aA	43.200aA	50.125aA	62.900aA	55.625aA
Erva Cidreira	10.200bA	12.800bA	8.625cA	27.150aA	28.175aA	21.950bA	39.925aA	41.575aA	34.500bA
Controle	22.000aA	22.000aA	22.000aA	41.375aA	41.375aA	41.375aA	59.375aA	59.375aA	59.375aA

* A análise estatística foi realizada com os dados transformados ($x = \sqrt{x}$)
Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

A redução da capacidade de inibição, apresentada pelos extratos de graviola e erva cidreira a partir do sexto dia de avaliação, pode ser atribuída à volatilização dos constituintes químicos dos extratos e/ou à instabilidade dos mesmos, quando na presença de luz, calor, ar e umidade no interior das placas de Petri (SIMÕES e SPITZER, 2000).

Diversos trabalhos com o uso de extratos de plantas têm sido apontados como eficientes no controle de doenças fúngicas. Tagami e outros (2009), por exemplo, em estudo semelhante de fungitoxidade de extratos brutos de erva cidreira no desenvolvimento *in vitro* de fungos, demonstraram que os extratos testados apresentaram ação fungitóxica sobre o crescimento micelial do fungo *Colletotrichum graminicola*. Essa ação inibitória foi constatada com a aplicação de folhas secas de erva cidreira em contato com suspensão de esporos de *C. gloeosporioides*, promovendo um aumento dos tubos germinativos formados, bem como a inibição da formação de apressórios, e o uso de substâncias solúveis em etanol exerceu efeito fungistático *in vitro* (SANTOS, 1996).

Resultados contrastantes foram obtidos por Rozwalka e outros (2008) em estudo realizado com extratos aquosos de erva cidreira na concentração de 10% no controle do crescimento micelial de *C. gloeosporioides*. Possivelmente, resultados como estes podem estar associados a aspectos agronômicos, tais como, nível de sombreamento, época de colheita e método utilizado na preparação dos extratos. Essa possibilidade é reforçada pelos estudos de Ventrela (2000) e Castro (2001) que, ao estudarem as folhas de erva cidreira, cultivada em diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita, constataram uma melhor adaptação da planta às condições de alta intensidade luminosa, e que a melhor época de colheita para a produção de biomassa, rendimento e a composição química dos óleos essenciais ocorre na primavera e no verão.

De acordo com Silva (2006), a discrepância entre os resultados obtidos com o uso de extratos vegetais no controle de fitopatógenos justifica-se pela quantidade e composição química variáveis dos extratos. Isso explica, em parte, porque ocorre diferença nos resultados obtidos em pesquisas realizadas em diferentes locais com a mesma metodologia e a mesma espécie de planta. Leme e outros (2007) verificaram que a forma de esterilização e o tempo de armazenamento do extrato de capim limão interferiram na atividade do mesmo em relação ao desenvolvimento micelial de *Colletotrichum acutatum*.

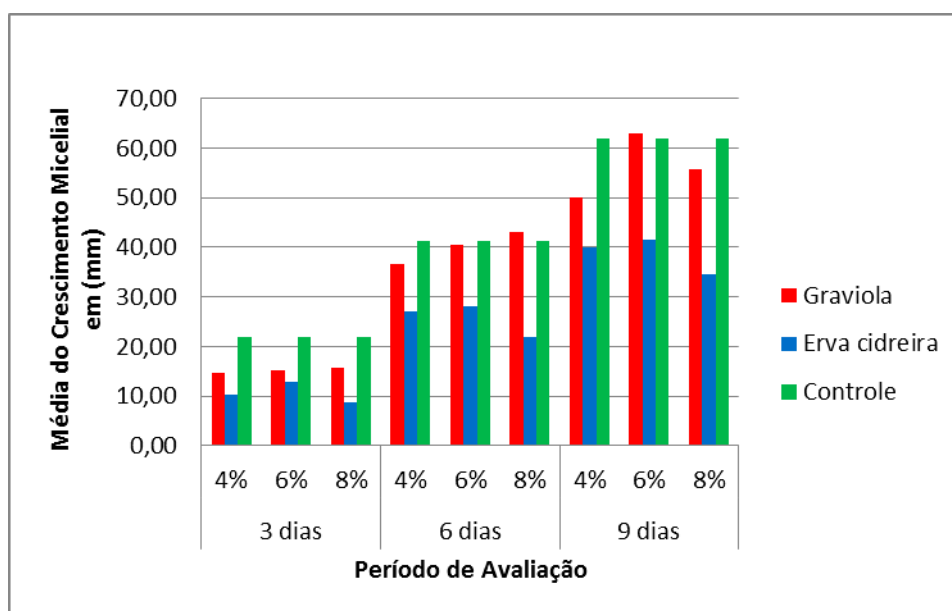


Figura 15 – Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. em meio de cultura BDA com extratos aquosos de folhas de graviola e erva cidreira a 4%, 6% e 8% aos três, seis e nove dias de avaliação. Vitória da Conquista, Bahia, 2012.

A Figura 15 apresenta os dados das médias do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em meio BDA, contendo extratos aquosos de folhas de graviola e erva cidreira nas concentrações de 4%, 6% e 8%. Pode-se observar

que o extrato de folhas de graviola e erva cidreira apresentaram melhores efeitos inibitórios durante os primeiros três dias, e apenas o extrato de folhas de erva cidreira na concentração de 8% manteve os efeitos de inibição de crescimento micelial do patógeno até os nove dias de avaliação.

4.2 Extratos aquosos de sementes de nim e graviola no controle da antracnose.

Conforme dados apresentados na Tabela 4, observa-se que, aos três dias de avaliação, o uso de extratos aquosos de sementes de nim e de graviola apresentaram melhores efeitos de inibição no crescimento micelial do patógeno quando comparados com o tratamento controle, nas três concentrações avaliadas. Entre os dois extratos estudados, observou-se que não houve variações significativas entre si, excetuando-se apenas na concentração de 4%, quando o extrato de graviola apresentou maior poder de inibição em relação ao extrato de sementes de nim.

O óleo de sementes de nim tem sido testado com sucesso por alguns autores para o controle de diversos fitopatógenos (CARNEIRO, 2002), e sua maior eficiência em relação ao extrato de folhas deve-se, provavelmente, à presença da azadiractina apenas nas sementes (MARTINEZ, 2002).

Leite e outros (2009) observaram uma redução do crescimento do diâmetro das lesões em maçã, em função das concentrações crescentes do óleo de nim, nos diferentes períodos de avaliação, quanto à severidade da antracnose. O crescimento micelial de *C. gloeosporioides* foi nulo com 48h de incubação e posterior efeito quadrático do óleo de nim nos demais períodos de avaliações. Com isso, verificou-se o efeito fungitóxico do óleo de nim no desenvolvimento de *C. gloeosporioides*, além da redução significativa da esporulação do fungo.

Tabela 4 – Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. em meio de cultura BDA com extratos aquosos de sementes de nim e graviola a 4%, 6% e 8%, no período de nove dias de avaliação. Vitória da Conquista, Bahia, 2012.

MÉDIAS (diâmetro em mm)*									
TRAT.	3 dias			6 dias			9 dias		
	4%	6%	8%	4%	6%	8%	4%	6%	8%
Nim	11.125bA	10.125bA	9.200bA	45.625aA	42.275aAB	35.375bB	68.625aA	67.000aA	50.925aA
Graviola	7.775cA	8.025bA	7.450bA	27.625bA	33.625bA	33.850bA	49.750aA	49.625aA	57.875aA
Controle	19.175aA	19.175aA	19.175aA	50.025aA	50.025aA	50.025aA	66.000aA	66.000aA	66.000aA

* A análise estatística foi realizada com os dados transformados ($x = \sqrt{x}$)
Médias seguidas pela mesma letra minúscula na coluna e mesma letra maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo Teste Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados deste trabalho assemelham-se aos diversos trabalhos pesquisados, demonstrando que o uso do extrato de sementes de nim, no controle do crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., apresentou efeito inibitório nas três concentrações avaliadas aos três dias de avaliação.

No sexto dia de avaliação (Tabela 4), o extrato de sementes de graviola apresentou melhor efeito inibitório quanto ao crescimento micelial do patógeno, em relação ao tratamento controle nas três concentrações estudadas. Comparando o efeito dos dois extratos, de nim e graviola, observou-se que o extrato de graviola promoveu melhor controle no crescimento micelial nas concentrações de 4% e 6%, mas não houve variação entre ambos na concentração de 8%. O extrato de sementes de nim apresentou diferença significativa apenas a 8% de concentração em relação ao tratamento controle. Entre as diferentes concentrações dos tratamentos foram observadas diferenças significativas apenas para o extrato de sementes de nim a 8%, que apresentou o melhor efeito de inibição do crescimento micelial, em comparação ao extrato a 4% de concentração, sem, contudo, diferir da concentração de 6%.

Aos nove dias de avaliação do crescimento micelial do fungo *C. gloeosporioides* Penz., verificou-se que não houve diferenças significativas entre os tratamentos e as concentrações testadas.

A Figura 16 apresenta os dados das médias do crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em meio BDA, contendo extratos aquosos de sementes de nim e graviola nas concentrações de 4%, 6% e 8%. Pode-se observar que os extratos de nim e graviola apresentaram maior efeito inibitório do crescimento micelial do fungo patogênico aos três dias de avaliação que o controle, entretanto, aos seis dias, apenas o extrato de sementes de graviola continuou com boa eficiência no controle do crescimento nas diversas concentrações utilizadas. No sexto dia, o extrato de nim apresentou eficácia apenas na

concentração de 8% em comparação com o controle. Aos nove dias de avaliação, já não foram observados efeitos de inibição dos extratos vegetais.

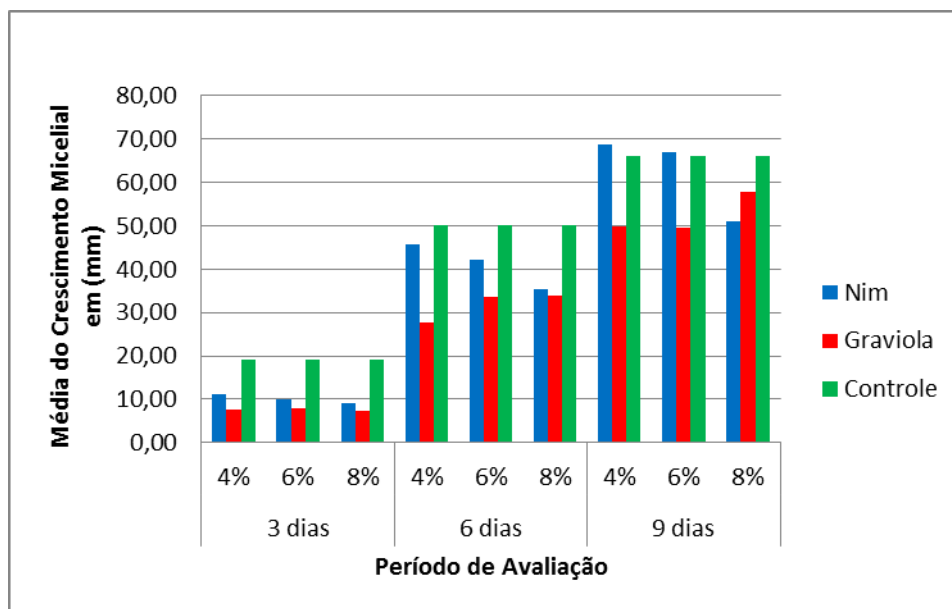


Figura 16 – Crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. em meio de cultura BDA com extratos aquosos de sementes de nim e graviola a 4%, 6% e 8% aos três, seis e nove dias de avaliação. Vitória da Conquista, Bahia, 2012.

Diante das análises dos resultados apresentados neste trabalho, pode-se avaliar que o uso de extratos aquosos de folhas de erva cidreira e de sementes de graviola no controle *in vitro* da antracnose de fruto de mamão, causada pelo fungo *C. gloeosporioides* Penz., apresentou satisfatório potencial no controle alternativo desse patógeno. Assim, são necessárias, novas investigações em condição de campo, bem como o isolamento e identificação de compostos químicos presentes nos extratos que promovam efeitos fungistáticos e fungicidas.

5 CONCLUSÕES

Nas condições em que foram realizados os experimentos, pode-se concluir que:

- O extrato aquoso de folhas de erva cidreira apresenta ação inibitória *in vitro* até seis dias no crescimento micelial do fungo *C. gloeosporioides* em frutos de mamão, enquanto que o extrato de folhas de graviola apresenta esse efeito por um período de até três dias;

- O extrato aquoso de sementes de graviola apresenta efeito inibitório no crescimento micelial do fungo *C. gloeosporioides* até seis dias, enquanto que o extrato aquoso de sementes de nim apresenta efeito inibidor até o terceiro dia.

6 REFÊRENCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5ª ed. Flórida: ELSEVIER, 2004. 903p.
- ALMEIDA, T. F.; CAMARGO, M.; PANIZZI, R. de. Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 35, n. 3, p. 196-201, 2009.
- BAILEY, A. J.; JEGER, J. M. *Colletotrichum: biology, pathology and control*. Oxford: British Society for Plant Pathology, 1992. 388p.
- BETTIOL, W. Métodos Alternativos para o Controle de Doenças de Plantas. In: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. **Proteção de Plantas na Agricultura Sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2001. p. 123-139.
- BIRD, G. W.; EDENS, T.; DRUMMOND, F.; GRODEN, E.; Design of pest management systems for sustainable agriculture. In: FRANCIS, C. A.; FLORA, C. B.; KING, L. D. (Ed.) **Sustainable agriculture in temperate zones**. New York: John Wiley, 1990. p. 55-110.
- BOYCE, A. M. Historical aspects of insecticide development. In: METCALF, R. L.; MCKELVEY Jr., J. J. **The future for insecticides needs and prospects: proceedings of a Rockefeller Foundation Conference**. New York: Wiley Interscience, 1974. p. 469-488.
- CARNEIRO, S. M. de T. P. G. Ação do nim sobre fungos fitopatogênicos. In: MARTINEZ, S. S. **O Nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2002. p. 59-64.
- CARNEIRO, S. M. de T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2007.
- CARVALHO, D. A. de. **Sistemática Vegetal**. Lavras: UFLA/FAEPE, 2001. 171p.
- CASTRO, D. M. **Efeito da variação sazonal, colheita selecionada e diferentes temperaturas de secagem sobre a produção de biomassa, rendimento e composição de óleos essenciais das folhas de *Lippia alba***. 2001. 134p. Dissertação (Doutorado em Agronomia – Horticultura) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2001.
- CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. rev. amp. Lavras: ESAL/FAEFE, 2005. 785p.

COSTA, J. G. M. et al. Estudo químico-biológico dos óleos essenciais de *Hyptis martiusii*, *Lippia sidoides* e *Syzigium aromaticum* frente às larvas do *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Curitiba, v. 15, p. 304-309, 2005.

DANTAS, S. A. F. et al. Doenças fúngicas pós-colheita em mamões e laranjas comercializados na Central de Abastecimento do Recife. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 28, n. 5, p. 528-533, 2003.

DHARMENDRA, S.; KHANUJA, S. P. S.; KAHOL, A. P., GUPTA, S. C., SUSHIL, K. Comparative antifungal activity of essential oils and constituents from three distinct genotypes of *Cymbopogon* spp. **Current-Science**. Bangalore, v. 80, n. 10, p. 1264-1266, 2001.

FAO. **Produção Mundial de mamão de 2011**. Disponível em: www.cnpmf.embrapa.br/. Atualizado em 16/01/2013. Acesso em 10/04/2003.

FARIAS, A. R. N. et al. **A cultura do mamão**. 2ª ed., Brasília: EMBRAPA/CNPMT, 1998. 95p.

FERREIRA, R.; RODRIGUES, A.; CATARINO, A.; MORAES, F. Utilização dos Resíduos Orgânicos de Nim e Citronela no Controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em Maracujazeiro Amarelo. UEMA. Resumos do VICBA e II CLAA. **Revista Brasileira de Agroecologia**. Camaragibe, v. 4, n. 2, p. 893-896, 2009.

GOVINDACHARI, T. R.; SURESH, G.; GOPALAKRISHNAN, G.; BANUMATHY, B.; MASILAMANI, S. Identification of antifungal compounds from the seed oil of *Azadirachta indica*. **Phytoparasitica**. Bet Dagan, v. 26, n. 2, p.109-116, 1998.

IBGE. **Produção Agrícola Municipal de 2011**. Disponível em: www.cnpmf.embrapa.br/. Acesso em 10/04/2013.

JACOBSON, M. Botanical pesticides: past, presente and future. In: ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; MORAND, P. (Eds). Insecticide of plant origin. **American Chemical Society**. Washington, v. 387. p. 69-77, 1989.

JACOMINO, A. P.; BRON, L. U.; KLUGE, R. A. Avanços em tecnologia pós-colheita de mamão. In: MARTINS, D. S. **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno**. Vitória: INCAPER, 2003. p. 283-293.

KIMATI, H. Controle químico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (ed.) **Manual de Fitopatologia: Princípios e Conceitos**. 3ª ed., v.1. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. 919p.

- LEITE, C. D. et al. Controle Pós-Colheita da Podridão Amarga da Maçã com o Uso do Óleo de Nim. Resumos do VI CBA e II CLAA. **Revista Brasileira de Agroecologia**. Camaragibe, v. 4, n. 2, p. 1644-1648, 2009.
- LEME, M. I. S. et al. Efeito *in vitro* de capim limão no desenvolvimento micelial de *Colletotrichum acutatum*. **Summa Phytopathologica**. Botucatu, v. 33 (suplemento), p. 92, 2007.
- LOPES, I. V. et al. **Gestão Ambiental no Brasil: Experiência e Sucesso**. 3ª ed. Rio de Janeiro: FGV, 2002. 408p.
- MARICONI, F. A. M. **Inseticidas e seu emprego no combate às pragas**. v. 1 (Defensivos). 5ª ed. São Paulo: NOBEL, 1981. 122p.
- MARIN, S. L. D.; GOMES, J. A.; ALVES, F. de L. **Introdução, avaliação e seleção do mamoeiro cv. Improved Sunrise Solo Line 72/12 no Estado do Espírito Santo**. Vitória: EMCAPA – Boletim Técnico 59, 1989. 13 p.
- MARTINEZ, S. S. (Ed.). **O nim *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: Instituto Agrônomo do Paraná, 2002. 142p.
- MEDINA, J. C. Cultura. In: Medina, J. C., Bleinroth, E. W., Sigrist, J. M. M., de Martin, Z. J., Nisida, A. L. A. C., Baldini, V. L. S., Leite, R. S. S. F.; Garcia, A. E. B. (Eds.) **Mamão: cultura, matéria-prima, processamento e aspectos econômicos**. 2ª ed. Campinas: ITAL (Frutas Tropicais 7), 1989. 177p.
- MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. **Proteção de Plantas na Agricultura Sustentável**. Recife: UFRPE, Imprensa Universitária, 2001. p. 1-14.
- MORAIS, L. A. S. de. Óleos Essenciais no Controle Fitossanitário. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 139-152, 2009.
- MORAIS, L. A. S. de; GONÇALVES, G. G.; BETTIOL, W. Óleos Essenciais no Controle de Doenças de Plantas. In: LUZ, W. C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v. 17, p. 257-304, 2009.
- MORANDI, M. A. B; BETTIOL, W. Controle Biológico de Doenças de Plantas no Brasil. In: _____. **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, cap. 1, p. 7-14, 2009.
- MOREIRA, M. D. et al. Uso de Inseticidas Botânicos no Controle de Pragas. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J. de; PALLINI, A. **Controle Alternativo de Pragas e Doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM/UFV, cap. 6, p. 89-120, 2006.
- MOTA, J. C. O.; PESSOA, M. N. G.; VIANA, F. M. P.; ANDRADE NETO, M. Efeito de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais no controle *in vitro* de

Lasiodiplodia theobromae. **Fitopatología Venezolana**. Caracas, v.15, n. 1, p. 2-6, 2002.

NERY-SILVA, F. A., MACHADO, J. C., LIMA, L. C. O. ; RESENDE, M. L. V. Controle químico da podridão peduncular de mamão causada por *Colletotrichum gloeosporioides*. **Ciência Agrotécnica**. Lavras, v. 25, p. 519-524, 2001.

NEVES, B. P. das; OLIVEIRA, I. P.; NOGUEIRA, J. C. M. Cultivo e Utilização do Nim Indiano. **Circular técnica 62**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA, 2003. 12p.

OLIVEIRA, A. M. G. et al. **Mamão para exportação: aspectos técnicos da produção**. Brasília: EMBRAPA-SPI / FRUPEX – Publicações Técnicas 9, 1994. 52p.

POTENZA, M. R. Produtos Naturais para o Controle de Pragas. **X Reunião Itinerante de Fitossanidade do Instituto Biológico – Café**. Mococa: Instituto Biológico, 2004. 101p.

QUINTELA, E. D.; PINHEIRO, P. V. Efeito de extratos botânicos sobre a oviposição de *Bemisia tabaci* biótipo B em feijoeiro. **Comunicado Técnico 92**, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, 2004. 6p.

RESENDE, M. L. V.; CASTRO, H. A. **Manejo de Doenças Fúngicas**. Lavras: UFLA / FAEPE, 2000. 60p.

REZENDE, J. A.; FANCELLI, M. I. Doenças do mamoeiro (*Carica papaya* L.) In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia**. 3ª ed. v.2, São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. p. 452-462.

REZENDE, J. A.; MARTINS, M. C. Doenças do mamoeiro (*Carica papaya* L.) In: KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia**. 4ª ed. v. 2, São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 435-447.

RINALDI, M. V. N. **Avaliação da atividade antibacteriana e citotóxica dos alcalóides isoquinolínicos de *Annona hypoglauca* Mart.** 2007. 125p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ROZWALKA, L. C. **Controle alternativo da antracnose em frutos de goiabeira, em laboratório**. 2003. 45p. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2003.

ROZWALKA, L. C.; LIMA, M. L. R. Z. C.; MIO, L. L. M. de; NAKASHIMA, T. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na

inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 2, p.301-307, 2008.

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPMA (Série Documentos 12), 1998. 46p.

SANTOS, M. F. B. dos. **Efeito de extratos de duas formas de *Lippia alba* sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado de *Citrus* sp.** 1996. 105p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia e Bioquímica de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

SÃO JOSÉ, A. R. **Cultivo e Mercado da Graviola**. Fortaleza: Instituto Frutal, 2003. 36p.

SCHMUTTERER, H. Properties and potencial of natural pesticides from to nim tree *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 358, p. 271-297, 1990.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Extratos vegetais e de cogumelos no controle de doenças de plantas. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 27, n. 2 p. 4038-4045, 2009. Suplemento - CD Rom.

SERRANO, L. A.; CATTANEO, L. F. O cultivo do mamoeiro no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v. 32, n. 3, p. 657-959, 2010.

SILVA, A. C. da; SALES, N. L. P.; ARAUJO, A. V. de; CALDEIRA JÚNIOR, C. F. Efeito *in vitro* de compostos de plantas sobre o fungo *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. isolado do maracujazeiro. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v. 33, Edição Especial, p. 1853-1860, 2009.

SILVA, G. S. Substâncias naturais: uma alternativa para o controle de doenças. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 9, 2006. Palestra 5.

SILVA, M. B.; ROSA, M. B.; BRASILEIRO, B. G.; ALMEIDA, V.; SILVA, C. A. Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas. In: VENEZON, M.; PAULA JÚNIOR, T. J.; PALLINI, A. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: Epamig/CTZM/UFV, 2006. p. 221-246.

SILVA, W. W. et al. Ação do extrato alcoólico do capim santo (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf) sobre nematóides gastrintestinais de ovinos. **Agropecuária Científica no Semi-Árido**, Santa Cecília, v. 1, p. 46-49, 2005.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O. et al. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2000. 475p.

SOUZA, S. A. M. Mamão no Brasil: Distribuição Regional da Produção e Comportamento dos Preços no Período 1996-2005. **Informações Econômicas**, São Paulo, v. 37, n. 9, p. 24-32, 2007.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2005. 640p.

TAGAMI, O. K. et al. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento *in vitro* de fungos fitopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 285-294, 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. Trad. Eliane Romanato Santarém et al. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 687p.

TAVARES, G. M. **Controle químico e hidrotérmico da antracnose em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.) na pós-colheita**. 2004. 55p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Departamento de Fitopatologia, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2004.

TAVARES, G. M.; SOUZA, P. E. de. Efeito de fungicidas no controle *in vitro* de *Colletotrichum gloeosporioides*, agente etiológico da antracnose do mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 1, p. 52-59, 2005.

VENTRELLA, M. C. **Produção de folhas, óleo essencial e anatomia foliar quantitativa de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Br. (Verbenaceae) em diferentes níveis de sombreamento e épocas de colheita**. 2000. 86p. Dissertação (Doutorado em Agronomia – Horticultura) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Botucatu, 2000.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J. S. Manejo das doenças do mamoeiro. In: _____. **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória: Incaper, 2003. p. 231-267.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, C. A.; BERGAMIN, A. C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

VOLF, O; STEINHAUER, B. **Fungicidal activity of neem leaf extracts**. *Faculteit-Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen-Gent*, v. 62, p. 1027-1033, 1997.