

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE EDUCAÇÃO, AGRICULTURA E AMBIENTE
CURSO DE AGRONOMIA

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E USO DE EXTRATOS
VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE *FUSARIUM SOLANI*
ISOLADO DE RAÍZES DE MANDIOCA (*MANIHOT ESCULENTA*
CRANTZ) NO MUNICÍPIO DE HUMAITÁ, AM.**

Acadêmico: Jhonata Lemos da Silva

Humaitá-AM
Novembro de 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE EDUCAÇÃO, AGRICULTURA E AMBIENTE
CURSO DE AGRONOMIA

**CARACTERIZAÇÃO FISIOLÓGICA E USO DE EXTRATOS
VEGETAIS NO CONTROLE *IN VITRO* DE *FUSARIUM SOLANI*
ISOLADO DE RAÍZES DE MANDIOCA (*MANIHOT ESCULENTA*
CRANTZ) NO MUNICÍPIO DE HUMAITÁ, AM.**

Acadêmico: Jhonata Lemos da Silva

Orientadora: Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento

“Trabalho apresentado ao
Curso de Bacharelado em
Engenharia Agrônoma
da Universidade Federal
do Amazonas, como
requisito parcial para a
obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo”.

Humaitá-AM
Novembro de 2011

Jhonata Lemos da Silva

**Caracterização fisiológica e uso de extratos vegetais
no controle *in vitro* de *Fusarium solani* isolado de raízes
de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) no município de
Humaitá, AM.**

Trabalho apresentado ao
Curso de Bacharelado em
Engenharia Agrônômica
da Universidade Federal
do Amazonas, como
requisito parcial para a
obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo”.

APROVADA em:

Professora Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento – UFAM/IEAA
ORIENTADORA

BANCA EXAMINADORA:

Professora MSc. Janaína Paolucci Sales - UFAM/IEAA

Professor Dr. Heron Salazar Costa - UFAM/IEAA

HUMAITÁ
AMAZONAS – BRASIL

Dedico

À Deus pelas bênçãos e proteção recebida, que na sua infinita bondade me deu necessária coragem e oportunidade de concretizar o sonho de realizar o curso de graduação em Engenharia Agrônômica.

Aos meus pais Amadeu Moreira da Silva e Rosa Maria Lemos da Silva pela dedicação, confiança e grande amor. Obrigado pelos grandes esforços dia após dia realizados para minha formação intelectual e de vida.

Às minhas irmãs Carola, Chayane e Aleksandra que muito me animam.

Ao meu avô Pedro Gomes (*in memoriam*) e minha avó Lucrecia Lemos que me criaram e educaram durante a primeira década da minha vida.

À toda minha família que torceu durante todo o curso para meu sucesso.

À Sílvia Schütz pelo carinho, amor e amizade.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Amazonas por me proporcionar a oportunidade da realização deste curso.

Ao CNPq e a FAPEAM pelo auxílio financeiro através das bolsas de iniciação científica.

À Professora Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento pela orientação e pelas várias oportunidades fornecidas durante o curso de graduação.

Aos Amigos e Professores do Laboratório de Microbiologia da UFAM/Manaus pela paciência e ensinamentos das práticas básicas em Fitopatologia: Elisângela de Jesus da Silva Bezerra, Francly Mary Galúcio Sousa e João Vitor Camargo Soares.

À Professora Dra. Rosane Rodrigues da Costa Pereira pelo incentivo e auxílio em qualquer situação passível de apoio durante o curso.

Ao Professor Dr. Carlos Eduardo Pereira pelo compartilhamento de seu vasto conhecimento científico principalmente na área da experimentação agrícola.

Aos Professores do curso de graduação em Agronomia da UFAM, que transmitiram competência e dedicação dos seus conhecimentos, contribuindo decisivamente para o meu aprimoramento profissional. Destaco em especial o Professor Dr. André Moreira Bordinhon pelos incentivos e exemplo de excelência profissional.

Aos amigos que me auxiliaram na realização deste trabalho: Raimundo Nonato Vieira Teixeira, Danielle Ivana Pereira dos Santos e Jonas Onis Pessoa.

A todos que auxiliaram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

Epígrafe

“Feliz o homem a quem Deus corrige!

Não rejeites, pois a repreensão do Poderoso, porque ele fere, mas trata da ferida; golpeia, mas suas próprias mãos curam. De seis tribulações te livrará, e na sétima, o mal não te atingirá.

Na fome, ele te livra da morte e, na guerra, do perigo da espada. Estarás salvo do açoite da língua e não terás medo da devastação, quando chegar.

Na desolação e na penúria hás de rir, e dos animais selvagens não terás receio.

Até com as pedras do campo farás aliança e os animais selvagens serão amistosos contigo.

Saberás que está em paz a tua tenda e, visitando a tua propriedade, verás que nada falta.

Descerás ao sepulcro ainda em teu vigor, como a colheita do trigo em tempo certo. Olha as coisas são assim, como investigamos a fundo: escuta bem e tira proveito para ti”. (Bíblia Sagrada. Livro de Jó, cap 5, 17-27).

RESUMO

Caracterização fisiológica e uso de extratos vegetais no controle *in vitro* de *Fusarium solani* isolado de raízes de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) no município de Humaitá, AM.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar fisiologicamente e testar extratos vegetais no controle *in vitro* de *F. solani* isolado de raízes de mandioca. O fungo foi cultivado utilizando cinco meios de cultura (batata dextrose ágar, batata sacarose ágar, mandioca ágar, micophil e agar-água) sob três regimes de luminosidade (escuro contínuo, fotoperíodo de 12 h e luz contínua) durante o período de incubação de sete dias, a temperatura de 25 °C ± 2 °C. O ensaio foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial (5x3), com três repetições. Quanto o controle *in vitro* de *F. solani* utilizou-se o método de incorporação dos extratos de Alho, Capim santo e Pimenta malagueta ao meio para as concentrações finais de 1, 10, 20 e 40%. A análise da inibição do crescimento micelial foi feita medindo-se os diâmetros das colônias em dois sentidos diametralmente opostos com auxílio de uma régua milimetrada durante 5 dias. Avaliou-se a esporulação, a partir da contagem de três leituras por tratamento dos esporos do fungo em hemacitômetro, após a incubação. Quanto à germinação, esporos de *F. solani* na concentração de 2×10^6 foram imersos em soluções dos extratos, nas concentrações mencionadas, e avaliados quanto à germinação de conídios 12 horas após a imersão. Os meios BDA e BSA sob regime de luz contínua induziram maior crescimento micelial e produção de conídios. Enquanto que no meio AA sob escuro contínuo ocorreu as menores taxas de esporulação e crescimento micelial. Os extratos empregados reduziram a taxa de crescimento micelial, esporulação como também a germinação de esporos de *F. solani*. O extrato de alho a partir da concentração de 20% mostrou maior eficiência em relação aos demais tratamentos.

Palavras-chaves – Avaliação, Fisiologia, *Manihot esculenta*, Podridão radicular, Extratos vegetais.

ABSTRACT

Physiological characterization and use of plant extracts in in vitro control of *Fusarium solani* isolated from roots of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) in the city of Humaita AM.

The objective of this study was to characterize physiologically and test plant extracts in in vitro control of *F. solani* isolated from cassava roots. The fungus was grown using five culture media (potato dextrose agar, potato sucrose agar, cassava, agar-agar and water micophil) under three lighting regimes (continuous darkness, a photoperiod of 12 h continuous light) during the incubation period of seven days, the temperature of $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. The trial was conducted in a completely randomized factorial scheme (5x3) with three replications. The in vitro control of *F. solani* used the method of incorporation of extracts of garlic, lemongrass and chili pepper in half to the final concentrations of 1, 10, 20 and 40%. The analysis of inhibition of mycelial growth was done by measuring the diameters of the colonies in two diametrically opposite meanings with the aid of a millimeter ruler for 5 days. Sporulation was evaluated from the count of three readings by the treatment of fungal spores in hemacytometer after the incubation. Germination, spores of *F. solani* at a concentration of 2×10^6 were immersed in solutions of the extracts at concentrations above, and evaluated for germination of conidia after 12 hours immersion. The BDA media and BSA under the regime of continuous light induced higher mycelial growth and conidial production. While in the middle AA in continuous darkness was the lowest rates of mycelial growth and sporulation. The extracts employed reduced the rate of mycelial growth, sporulation as well as the germination of spores of *F. solani*. The extract of garlic from the concentration of 20% showed greater efficiency relative to other treatments.

Keywords - Assessment, Physiology, *Manihot esculenta*, root rot, plant extracts.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Análise de variância para o crescimento micelial, em mm, e esporulação de <i>F. solani</i> em diferentes meios de cultura e regimes de luminosidade, UFAM, Humaitá-AM, 2011.....	17
Tabela 2 - Crescimento micelial, em mm, de <i>F. solani</i> em diferentes meios de cultura sob três regimes de luminosidade: escuro contínuo (EC); fotoperíodo 12 h (FP); luz contínua (LC), UFAM, Humaitá-AM, 2011.....	18
Tabela 3 - Produção de conídios ($\times 10^3$ conídios.ml ⁻¹) de <i>F. solani</i> em meios de cultura sob três regimes de luminosidade: luz contínua (LC), escuro contínuo (EC) e fotoperíodo 12 h (FP), UFAM, Humaitá-AM, 2011.....	20
Tabela 4 - Efeito de diferentes extratos vegetais e concentrações sobre a porcentagem da inibição do crescimento de <i>F. solani</i> , UFAM, Humaitá-AM, 2011.....	23
Tabela 5 - Efeito de diferentes extratos vegetais e concentrações sobre a porcentagem da inibição da esporulação de <i>F. solani</i> , UFAM, Humaitá-AM, 2011.....	26
Tabela 6 -Efeito de diferentes extratos vegetais e concentrações sobre a porcentagem da inibição da germinação de conídios de <i>F. solani</i> , UFAM, Humaitá-AM, 2011.....	27

LISTA DE ABREVIATURAS

AA – Ágar-água

BDA – Batata-detrose-ágar

MA – Micophil- ágar

BSA - Batata-sacarose-ágar

MAND-A – Mandioca-ágar

EC – Escuro contínuo

LC – Luz contínuo

FT – Fotoperíodo de 12h

EBA – Extrato bruto aquoso

ADE – Água destilada esterilizada

ppm – parte por milhão

ml – mililitro

G. L. – Graus de liberdade

Q.M. – Quadrado médio

F.V. – Fonte de variação

C.V. – Coeficiente de variação

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	14
2.1. Aspectos gerais sobre o cultivo da mandioca	14
2.2. Podridão radicular da cultura da mandioca	15
2.3. Caracterização fisiológica de <i>F. solani</i>	16
2.4. Utilização de extratos vegetais no controle de fitopatógenos.....	16
3. JUSTIFICATIVA	18
4. OBJETIVOS	19
4.1. Geral.....	19
4.2. Específicos	19
5. MATERIAL E MÉTODOS	20
5. 1. Obtenção do isolado de <i>Fusarium solani</i>	20
5.2 Meios de cultura visando crescimento micelial e esporulação de <i>F. solani</i>	20
5.3. Efeito de extratos vegetais sobre o crescimento micelial, esporulação e germinação de esporos de <i>F. solani</i>	21
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
6.1. Meios de cultura visando crescimento micelial e esporulação de <i>F. solani</i> ...	24
6.2. Efeito de extratos vegetais sobre o crescimento micelial, esporulação e germinação de esporos de <i>F. solani</i>	29
7. CONCLUSÕES	34
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1. INTRODUÇÃO

A podridão radicular, causada principalmente, por *Fusarium* sp. e *Phytophthora* sp. é um dos fatores limitantes da produção de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) em algumas áreas da Região Norte e Nordeste. A doença é particularmente importante nos ecossistemas de Várzea e de Terra Firme dos Estados do Amazonas, Pará, e Amapá (SERRA et al., 2009).

A dificuldade em conseguir isolados esporulantes, ou mesmo padronizar condições ideais para a esporulação de fungos fitopatogênicos, é um dos principais problemas enfrentados por grupos de pesquisa que visam à identificação de cultivares resistentes (CRUZ et al., 2009).

Sabe-se que a composição do meio de cultura a temperatura e luminosidade determinam a quantidade e qualidade do crescimento micelial e esporulação dos fitopatógenos (DHINGRA e SINCLAIR 1995).

Para serem desenvolvidos estudos de controle da doença como o desenvolvimento de resistência genética do hospedeiro ou produtos alternativos com potencial fungitóxico, há necessidade de se fazerem inoculações artificiais em ambientes controlados e experimentos *in vitro*, o que requer a produção massal de esporos do patógeno. Atualmente o controle da doença é realizado basicamente com a utilização de fungicidas. Porém a adoção indiscriminada destes produtos tem ocasionado problemas de contaminação humana e ambiental, e tem provocado a seleção de patógenos resistentes a esses produtos químicos (GHINI e KIMATI, 2000). A busca de substitutos para estes produtos encontra nas plantas uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor (SOUZA et al., 2007).

A Amazônia com sua biodiversidade é uma grande fonte de recursos naturais para obtenção de substâncias fungitóxicas com potencial para utilização no controle de doenças de plantas (SILVA e BASTOS, 2007). Da região já existe uma grande quantidade de metabólitos secundários das plantas medicinais que foram isolados e identificados em relação à estrutura química, porém, ainda não foram estudados quanto às atividades fungitóxicas. A obtenção dos metabólitos

secundários de plantas, bem como, a determinação da atividade biológica de suas moléculas, com respeito à atividade elicitora e/ou antimicrobiana poderá contribuir para a aquisição de maiores conhecimentos que reforçam a possível utilização como um método alternativo de controle de doenças de plantas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2000).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Aspectos gerais sobre o cultivo da mandioca

A mandioca, *Manihot esculenta* Crantz, pertence à classe das dicotiledôneas e à família Euphorbiaceae, constituída por 7.200 espécies. Das 98 espécies pertencentes ao gênero *Manihot*, somente *M. esculenta* tem propriedades comerciais para a produção de raízes tuberosas comestíveis, mas todas elas têm capacidade de intercruzamento (CEBALLOS e CRUZ, 2002).

A mandioca é um arbusto perene, com altura média de um a cinco metros, sendo que geralmente não ultrapassa os três metros (CEBALLOS e CRUZ, 2002). Possui destacável adaptação a uma elevada diversidade de ambientes, tolerância a distintos fatores bióticos e abióticos prejudiciais à produção, e diversificada versatilidade de uso (CONCEIÇÃO, 1981).

A cultura se desenvolve com vigor em locais onde não ocorrem geadas, e com temperaturas entre 16 e 38°C (CONCEIÇÃO, 1981). Temperaturas inferiores a 20°C não são convenientes para o cultivo da espécie, fato que leva os agricultores de regiões frias a evitar tal plantio. Entre 20 e 25°C a taxa fotossintética de plantas de mandioca mantem-se estável e o máximo de atividade fotossintética ocorre na faixa de 35°C, sendo que temperaturas superiores e inferiores reduz este índice (EI-SHARKAWY et al., 1989).

Uma mesma cultivar de mandioca dificilmente se comporta de maneira semelhante em todos os ecossistemas, o que justifica, em parte, a elevada diversidade de cultivares utilizada pelos agricultores de mandioca do Brasil. O elevado número de pragas e doenças que afetam o cultivo de mandioca são fatores determinantes para a necessidade de elevado número de cultivares existentes (FUKUDA et al., 2003).

Quanto aos tratos culturais a mandioca é predominantemente cultivada por pequenos produtores, que usam pouca ou nenhuma tecnologia de produção como observado no município de Humaitá-AM. Na maioria das regiões do mundo foram os próprios produtores quem primeiro definiram os períodos mais apropriados para efetuarem a colheita da planta (CONCEIÇÃO, 1981). De acordo com Lorenzi e

Dias (1993), as raízes tuberosas de mandioca podem ser coletadas conforme as necessidades, não apresentando um período crítico de colheita. Porém, o período de trincamento do solo próximo da planta é um bom indicativo da maturação das raízes. Entretanto, Carvalho et al., 1988, citou que muitos produtores observam o amarelecimento e queda das folhas, ou ainda, o ressecamento das extremidades das hastes para realizar a colheita.

2.2. Podridão radicular da cultura da mandioca

As podridões radiculares causadas por patógenos como *Phytophthora* spp. e *Fusarium* spp. caracterizam-se como uma das doenças mais importantes da mandioca, pois afetam a qualidade sanitária do material de plantio e causam apodrecimento das raízes (LOZANO, 1989). Diferenciam-se por estarem normalmente restritas as áreas de solos argilosos e mal drenados causando problemas nos plantios feitos em baixadas e várzeas (MASSOLA e BEBENDO, 2005), recentemente uma grande epidemia causada por *Phytophthora* spp. causou perdas na ordem de 60 % em extensas áreas da Região Amazônica.

Segundo Lozano et al. (1985), esse patógeno ataca plantas jovens e adultas, estas mostram-se amarelecidas e posteriormente murcham e secam causando severo desfolhamento, quanto as raízes as torna escuras com estrias negras internamente exudando um líquido fétido, culminando com a morte da planta. Diferencia-se por estar normalmente restrita as áreas de solos argilosos e mal drenados causando problemas nos plantios feitos em baixadas e várzeas (MASSOLA e BEBENDO, 2005). Em alguns casos, têm-se observados prejuízos totais, principalmente em plantios conduzidos em áreas sujeitas à constante encharcamento (MUNIZ et al., 2006). Estima-se que, na Região Amazônica as perdas causadas pela podridão radicular chegam a ser superiores a 50% na Várzea, podendo atingir até 30% na Terra Firme (MATTOS et al., 2003).

A disseminação do fungo ocorre através de rizomorfos que avançam no solo a vários metros de distancia (LIMA et al., 1995).

No concerne ao controle da doença (MASSOLA e BEBENDO, 2005) recomendam o plantio em solos com boa drenagem, porém, nas áreas de

várzeas, as práticas culturais para o controle das podridões radiculares envolvem a rotação de cultura na estação seca, com milho ou arroz, e o plantio em camalhões de 30 cm de altura aproximadamente, além disso pode-se utilizar manivas saudáveis e tratadas quimicamente através da imersão por 10 minutos numa suspensão de Fosetyl – Al (80%) na concentração de 2 g/L.

2.3. Caracterização fisiológica de *F. solani*

Para serem desenvolvidos estudos de controle da doença como o desenvolvimento de resistência genética do hospedeiro ou produtos alternativos com potencial fungitóxico, há necessidade de se fazerem inoculações artificiais em ambientes controlados e experimentos *in vitro*, o que requer a produção massal de esporos do patógeno. Nozaki et al., (2004), afirmam que nem sempre as condições que favorecem o crescimento são as mesmas para esporulação, pois a luz exerce efeito direto sobre o fungo, induzindo ou inibindo a formação de estruturas reprodutivas. Segundo estes autores, alguns meios de cultura são mais favoráveis para a esporulação de fungos que outros, por apresentarem carboidratos complexos que são menos adequados para a produção de hifas vegetativas, porém mais adequados à produção de esporos.

Quando um fungo cresce bem em um substrato e não em outro, acredita-se que metabólitos específicos estejam envolvidos (MENEZES e SILVA-HANLIN, 1997). A esporulação é um processo de diferenciação mais específico, no qual, estão envolvidas as células reprodutivas afetadas por modificações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (CASTRO e COELHO, 2000).

2.4. Utilização de extratos vegetais no controle de fitopatógenos

Atualmente o controle da doença é realizado basicamente com a utilização de fungicidas. Porém a adoção indiscriminada destes produtos tem ocasionado problemas de contaminação humana e ambiental, e tem provocado a seleção de patógenos resistentes a esses produtos químicos (GHINI e KIMATI, 2000). A busca de substitutos para estes produtos encontra nas plantas uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor (SOUZA et al., 2007).

Os resultados alcançados nessa linha de pesquisa têm-se mostrado promissores para uma utilização prática no controle de fitopatógenos em diversas culturas (FRANCO e BETTIOL, 2000; BENATO et al., 2002; CARRÉ et al., 2002; MOREIRA et al., 2002). Foi verificado por Oliveira (2008) que a utilização de extratos vegetais de alho em diferentes concentrações (20, 30 e 40%) pode ser uma alternativa de controle de *F. gutiforme*. Souza et al., (2007) relataram que os extratos de alho e capim-santo (*Cymbopogon citratus*) inibiram a germinação do fungo *F. proliferatum*. Bastos (1997) demonstrou, in vitro e in vivo, a ação inibitória do óleo essencial de *P. aduncum* contra *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer, agente causal da vassoura-de bruxa do cacauero (*Theobroma cacao* L.) e a inibição in vitro do crescimento micelial de vários fitopatógenos.

3. JUSTIFICATIVA

A mandioca é um alimento básico de milhões de habitantes dos trópicos de todo o mundo. No município de Humaitá-AM a mandioca é cultivada principalmente em pequenas propriedades para consumo de subsistência.

Além de ser utilizada para o próprio consumo é produzida em maior quantidade, porque delas fazem a farinha d'água que é a base da alimentação, e vendida no comércio local, e da qual fazem a farinha da tapioca, farinha seca, mingau, tarubá, polvilho e tucupi. Em observações realizadas em plantios de mandioca no município de Humaitá-AM foi verificado que a cultivar Pirarucu é plantada em maior quantidade pelos agricultores devido ao maior rendimento alcançado de goma, no entanto, esta cultivar apresentou maior suscetibilidade ao fungo *F. solani* causador da podridão radicular. Por isto, com este estudo espera-se obter as melhores condições para o crescimento micelial e esporulação de *F. solani* e produtos alternativos para o controle do fungo.

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

- Avaliar o comportamento fisiológico e uso de extratos vegetais in vitro no controle de *F. solani* obtido de raízes infectadas de mandioca.

4.2. Específicos

- Avaliar a eficiência de cinco meios de cultivo e três regimes de luminosidade no crescimento micelial e esporulação de *F. solani*.
- Analisar a eficácia dos extratos vegetais de alho, capim santo e pimenta na inibição do crescimento micelial, germinação de esporos e esporulação de *F. solani*.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Obtenção do isolado de *Fusarium solani*

O isolado de *F. solani* foi obtido a partir de raízes de mandioca da cultivar Pirarucu, apresentado sintomas característicos da doença, proveniente de lavouras localizadas nas várzeas do município de Humaitá-AM. Pelo método de isolamento direto, foram transferidas estruturas reprodutivas do patógeno para placas de Petri contendo meio de BDA (batata-dextrose-ágar) e cloranfenicol 250 ppm. Culturas de *F. solani*, crescidas em placa de Petri contendo meio de BDA, com 14 dias de incubação a $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ no escuro, foram utilizadas para multiplicação de inóculo. Raízes de mandioca foram inoculadas com discos de micélio do patógeno e após o surgimento de sintomas, realizou-se o reisolamento de *F. solani* confirmando os postulados de Koch.

5.2 Meios de cultura visando crescimento micelial e esporulação de *F. solani*.

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitossanidade da Universidade Federal do Amazonas, localizada no município de Humaitá/AM. Neste experimento, foi avaliada a esporulação e crescimento micelial de *F. solani* em 5 meios de cultura utilizando 3 regimes de luminosidade.

Da cultura pura do isolado, foram retirados discos de 5mm de diâmetro e depositados no centro de cada placa de Petri com 20 ml de seus respectivos meios testados. Todas placas foram mantidas em incubadora, a $25\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ sob seus relativos regimes de luminosidades.

Os meios de cultura testados foram: Batata-dextrose-ágar (BDA) (extrato de 200 g de batata, 20 g de dextrose, 20 g de ágar e 1000 mL água destilada), Micophil-ágar (MA) (10 g de extrato de soja, 10 g de dextrose, 20 g de ágar e 1000 mL de água destilada), Batata-sacarose-ágar (BSA) (extrato de 200 g de batata, 20 g de sacarose, 20 g de ágar e 1000 mL de água destilada), Mandioca-agar (MAND-A), o meio mandioca-ágar foi preparado, utilizando 200g de mandioca, 20g

de dextrose, 17g de agar e 1000mL de água destilada. Após o preparo, todos os meios foram autoclavados a 120°C por 20 minutos.

Os três regimes de luminosidade empregados foram: escuro contínuo (EC), luz contínua (LC), fotoperíodo de 12 h (FT).

A avaliação do crescimento micelial consistiu da leitura, a cada 24 h, do diâmetro da colônia em dois sentidos diametralmente opostos, com auxílio de uma régua milimetrada definindo uma média de três leituras. As leituras foram concluídas quando o crescimento da colônia cobriu completamente o diâmetro da placa em um dos tratamentos no quarto dia de avaliação.

Após a avaliação do crescimento do fungo, foi determinado o número de conídios, adicionando-se 3 mL de água destilada em cada placa, removendo-se os esporos com uma escova de cerdas macias. Da suspensão obtida, foi quantificada a esporulação de conídios por meio de três leituras em lâmina utilizando o método da gota.

O experimento seguiu em delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 5x3 com 3 repetições, onde cada repetição foi representada por uma placa de Petri de 90 mm de diâmetro. Foi utilizado o teste de Tukey ao nível de 5% para comparação das médias.

5.3. Efeito de extratos vegetais sobre o crescimento micelial, esporulação e germinação de esporos de *F. solani*.

O experimento foi realizado no Laboratório de Fitossanidade da Universidade Federal do Amazonas, localizada no município de Humaitá/AM.

Na preparação dos extratos foram utilizadas as espécies de Alho (*Allium sativum*), Capim santo (*Cymbopogon citratus*) e Pimenta malagueta (*Capsicum frutescens*). Foi utilizado o método de Scapin et al. (2010) com modificações, no qual folhas frescas e sadias das espécies selecionadas foram trituradas, separadamente, em caldo de batata por três minutos e os homogenatos resultantes filtrados em gaze, obtendo-se o extrato bruto aquoso (EBA). Este foi incorporado ao meio BDA (200 g de batata; 20 g de dextrose; 17 g de ágar; 100

mL de água destilada) de maneira a se obter as concentrações de 1, 10, 20 e 40%, para a testemunha, foi feita somente meio BDA sem a adição dos extratos.

Após a solidificação do meio foi efetuada a repicagem de um disco micelial (7 mm de diâmetro) de *F. solani* para o centro da superfície do meio de cultura com os respectivos tratamentos. As placas foram mantidas em temperatura ambiente (25 °C ±2) e fotoperíodo de 12 h, sendo a avaliação do crescimento micelial realizada a cada 24 horas, durante 5 dias, mensurando o diâmetro da colônia com auxílio de uma régua milimetrada em dois sentidos perpendicularmente opostos.

Após a análise do crescimento micelial foi feita a análise da produção de conídios de *F. solani*. Para isto foi preparada uma suspensão de conídios, onde foram adicionados 6 mL de ADE (água-destilada-esterilizada) em placas com colônias do fungo removendo-se os esporos com uma escova de cerdas macias. O material foi filtrado em duas camadas de gaze esterilizada, e a concentração determinada em hemacitômetro, com microscópio óptico, obtendo-se uma média de três leituras para cada um dos tratamentos.

O deliamento experimental para as duas variáveis (inibição do crescimento micelial e da esporulação) foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial (3 x 4 + 1), representados por três tipos de extratos vegetais em quatro concentrações mais a testemunha, com três repetições. As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do programa estatístico SISVAR v. 4.0 (Ferreira, 2000).

Para avaliar a inibição da germinação dos esporos, foi utilizado um isolado de *F. solani* incubado, por 7 dias, obtendo-se uma densa massa micelial e conidial. Foi obtida previamente uma suspensão de conídios mediante a deposição de 20 mL de água destilada esterilizada, sobre a superfície da placa com micélio fúngico, seguido uma raspagem superficial das colônias com auxílio de uma escova de cerdas macias. Após remoção da massa micelial mais conidial, foi feita a filtragem em camada dupla de gaze esterilizada, obtendo-se uma suspensão de conídios. Posteriormente, esta concentração foi ajustada a 2×10^6 esporos.mL⁻¹.

O teste adotado foi o da diluição extratos em água destilada e esterilizada, obtendo-se as concentrações de 1, 10, 20 e 40%. Em cada lâmina foram depositados 100 μ L das concentrações dos extratos, e a seguir, colocado 10 μ L da suspensão de esporos. As lâminas escavadas foram colocadas sobre um suporte dentro das placas de Petri de 90 mm de diâmetro contendo, em seu interior, duas folhas de papel filtro previamente umedecidas com água destilada esterilizada e, em seguida, deixadas em temperatura ambiente, durante 12 horas. Após as 12 horas de incubação, foram retiradas as lâminas escavadas da câmara de crescimento. Foram quantificados 100 conídios sob microscópio estereoscópico no aumento de 40 x, sendo considerados conídios germinados aqueles que apresentaram tubo germinativo independente do seu comprimento.

O experimento seguiu em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições, sendo uma lâmina escavada por parcela. A testemunha foi realizada em água destilada esterilizada sem o extrato. Para a comparação das médias (teste Tukey a 5%) foi utilizado o programa estatístico SISVAR v. 4.0 (FERREIRA, 2000).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Meios de cultura visando crescimento micelial e esporulação de *F. solani*.

O crescimento micelial de *F. solani* ocorreu em todos os meios quando submetidos aos três regimes de luminosidade avaliados (Tabela 1), no entanto, segundo os resultados da análise de variância, houve diferença significativa, para os meios de cultura e entre os três regimes de luminosidade avaliados ($p > 0,001$, Tabela 1).

Tabela 1 – Análise de variância para o crescimento micelial, em mm, e esporulação de *F. solani* em diferentes meios de cultura e regimes de luminosidade, UFAM, Humaitá-AM, 2011.

F.V.	G.L.	Q.M.	
		Crescimento micelial(a)	Esporulação(b)
Meios	4	4143,897**	9332319,744**
Luminosidade	2	259,305**	1509915,088**
Meios*Luminosidade	8	205,388**	414655,311**
Resíduo	30	18,156	34259,444
Total	44		
C.V. (%)		9,35	10,24

** Significativo pelo teste F, ao nível de 1% de probabilidade. (a) Diâmetro do crescimento da colônia do fungo em milímetro. (b) Produção de conídios pelo fungo.

Em relação ao crescimento micelial do fungo foi observado que o mesmo aproveitou de maneira mais eficiente o meio BDA, pois este proporcionou maior velocidade de crescimento micelial (90,00mm) quando comparado aos outros meios nos regimes de luz contínua e fotoperíodo de 12 h (Tabela 2).

Tabela 2 – Crescimento micelial, em mm, de *F. solani* em diferentes meios de cultura sob três regimes de luminosidade: escuro contínuo (EC); fotoperíodo 12 h (FP); luz contínua (LC), UFAM, Humaitá-AM, 2011.

Regime de luminosidade ¹	Meios de cultura ²				
	AA	BDA	BSA	MAND-A	MA
LC	13aE	90,00aA	62,66aB	50,83aC	35,00aD
EC	16,66aC	48,50cA	59,16abA	41,50bB	44,00bB
FT	15,83aD	67,83bA	53,50bB	36,50bC	38,66abC
C.V. = 9,35%					

¹Médias de três repetições por tratamento. Médias seguidas das mesmas letras minúsculas (colunas) e maiúsculas (linhas) não diferem entre si estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

²AA = Ágar-água; BDA = Batata-dextrose-ágar; BSA = Batata-sacarose-ágar; MAND-A = Mandioca ágar; MA = Micophil ágar.

Em regime escuro contínuo a maior média ocorreu meio de cultura BSA (59,16mm) seguida do meio BDA (48,50mm) não sendo observadas diferenças estatísticas entre estes dois tratamentos.

O meio BSA promoveu um bom desempenho na taxa de crescimento micelial, destacando-se dos meios Mand-A, MA e AA, que proporcionaram, em todos os regimes de luminosidade as menores taxas de crescimento, respectivamente. Os valores relativamente altos para velocidade média de

crescimento do fungo nos meios BDA e BSA demonstraram uma adequação do substrato às exigências fisiológicas do fungo.

Considerando a média dos resultados nos regimes de luminosidade (Tabela 1) observou-se maior crescimento micelial, quando o fungo foi cultivado em regime de luz contínua (Tabela 1) seguido de fotoperíodo de 12 h e escuro contínuo. Portanto, a ausência de luz inibiu o desenvolvimento micelial de *F. solani* em quase todos os meios de cultura, enquanto que a luz contínua favoreceu o crescimento micelial do fungo.

A ausência de luz para indução da esporulação já foi relatada para diversos fungos fitopatogênicos como, *Alternaria solani* (LUKENS, 1963) e *Mycosphaerella fijensis* (HANADA et al., 2002). Nestes casos, a luz age como foto-inibidor do crescimento micelial.

Os resultados da esporulação (Tabela 3) mostraram uma diferenciação de comportamento do fungo, em conformidade com as condições de luminosidade e nutricionais a que foi submetido. Assim, a maior produção de conídios foi constatada com relação à condição de LC, quando cultivado no meio de BDA (90,00mm). Também em FT o meio BDA apresentou médias superiores (67,83mm), já em regime EC o meio BSA proporcionou maior taxa de esporulação (59,16mm) não diferindo estatisticamente do meio BDA.

Os meios BDA e BSA são aqueles que apresentam maior riqueza nutricional e maior quantidade de carboidratos complexos. Estas características são citadas por diversos autores como capazes de induzir a reprodução de muitos fungos mitospóricos (LUKENS, 1963; STRANDBERG, 1987).

Tabela 3 - Produção de conídios ($\times 10^3$ conídios.ml⁻¹) de *F. solani* em meios de cultura sob três regimes de luminosidade: luz contínua (LC), escuro contínuo (EC) e fotoperíodo 12 h (FP), UFAM, Humaitá-AM, 2011.

Meios de cultura ¹	Regimes de luminosidade ²					
	LC		FT		EC	
	A	B	A	B	A	B
AA	0,53	6,27aD	0,48	6,17 aD	0,42	6,04 aC
BDA	4,13	8,32aA	3,09	8,03 bA	2,19	7,69 cA
BSA	2,56	7,84aB	2,50	7,82 aB	2,20	7,69 aA
MAND-A	1,62	7,39aC	1,39	7,23 abC	1,20	7,09 cB
MA	1,75	7,46aC	1,55	7,34 aC	1,41	7,25 aB

C.V. = 10, 24%

¹AA = Ágar-água; BDA = Batata-dextrose-ágar; BSA = Batata-sacarose- ágar; MAND-A = Mandioca ágar; MA = Micophil ágar.

² - A Dados originais, produção de conídios de *F. solani*/mL $\times 10^3$. B - Dados transformados para $\ln(x+1)$, onde x é a esporulação de *F. solani*. Médias seguidas pela mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Os meios MA e Mand-a apresentaram uma esporulação intermediária nos três regimes de luminosidade testados, mostrando-se estatisticamente semelhantes (1,62; 1,75).

O meio AA não estimulou a esporulação de *F. solani* nos regimes de luminosidade testados. Por outro lado, os meios mais ricos propiciaram maior esporulação como o BDA e o BSA, contrapondo-se a Dhingra e Sinclair (1995), que para estimular a esporulação de fungos recomendam meios de cultura mais pobres.

A inclusão de material vegetal no meio de cultura é uma técnica usada para estimular a produção de esporos para alguns fungos (NOZAKI et al., 2004).

Satyanarayana e Sadasiva (1986) também recomendam que meios preparados a partir de partes de plantas suscetíveis podem aumentar as chances de esporulação, porém, no presente trabalho o substrato preparado a partir da inclusão de raízes de mandioca (Mand-A) não estimulou o crescimento micelial e a esporulação satisfatória de *F. solani*.

A luminosidade foi um fator fundamental na esporulação de *F. solani* uma vez que no regime LC (4,13) foram observadas as maiores médias diferindo estatisticamente de FT e EC (Tabela 3). Estes resultados contrapõem-se a Bolkan et al., (1982) que observaram menores taxas de crescimento micelial de *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*, na presença de luz contínua e melhor esporulação no escuro contínuo a $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$. Resultados opostos foram obtidos por Devi e Singh (1994), os quais observaram que *F. moniliforme* esporulou mais em luz contínua.

Sabe-se que a luminosidade pode exercer efeito indutor ou inibidor sobre a formação de estruturas reprodutivas. Trione e Leach (1969) relataram que, para fungos cuja esporulação é induzida pela luz, este agente físico age diretamente na ativação de enzimas-chave envolvidas na esporogênese. Os mesmos autores afirmam ainda que a quantidade e a qualidade da luz necessária para induzir a formação de estruturas reprodutivas variam de acordo com a espécie fúngica. Com fotoperíodo de 12h *F. solani* apresentou as menores taxas de esporulação nos meios de AA, Mand-A e MA, respectivamente. Segundo Nozaki et al., (2004), nem sempre as condições que favorecem o crescimento do fungo são as mesmas para esporulação. A necessidade de luz para o crescimento e esporulação de fungos é muito variável, até mesmo entre isolados da mesma espécie (MASANGKAY, 2000 citado por CARNAÚBA et al., 2007). Alguns esporulam melhor na presença de luz contínua ou em escuro contínuo (COOPERMAN, 1986).

6.2. Efeito de extratos vegetais sobre o crescimento micelial, esporulação e germinação de esporos de *F. solani*.

Excetuando-se o tratamento com o extrato de alho a 40% todos os demais tratamentos estudados apresentaram crescimento vegetativo de *F. solani* (Tabela 4). Porém, observou-se diferenças na velocidade deste crescimento (Tabela 4) e no diâmetro máximo das colônias, em função do extrato e das concentrações utilizadas. O maior crescimento do fungo foi observado na testemunha, seguido dos tratamentos onde se empregou os demais extratos a 1%. Em concentração de 40% o extrato de alho apresentou grande potencial no controle do fungo. Estes efeitos inibitórios constatados neste trabalho também já foram observados por outros autores, Chalfoun e Carvalho (1997) revelaram que o extrato de bulbilhos de alho foi altamente eficiente na inibição do crescimento micelial de *Gibberella zeae* (Schw) Petch (anamorfo *Fusarium graminearum* Schwabe), *Alternaria zinniae* M.B. Elli e *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich. Bolkhan e Ribeiro (1981) constataram que o uso de extrato de bulbilhos de alho na concentração 5000 ppm promoveu inibição de 66% no desenvolvimento de micélio de *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*

Houve interação significativa das concentrações sobre o crescimento micelial de *F. solani* (Tabela 4, Figura 1), sendo que com o aumento das doses dos extratos maior foi a inibição do crescimento micelial. Chalfoun e Carvalho (1997), estudando efeitos de diferentes extratos vegetais para o controle desta e outras espécies fúngicas, também observaram que com o aumento da concentração dos extratos maior é o potencial de inibição do crescimento micelial dos fungos.

Tabela 4. Efeito in vitro dos extratos vegetais de alho, capim santo e pimenta e concentrações sobre a porcentagem da inibição do crescimento de *F. solani*, UFAM, Humaitá-AM, 2011.

Tratamentos	Inibição do crescimento micelial			
	1	10	20	40
Alho	12 aD	29,96 aC	49, 13 aB	100 aA
Capim santo	8,66 abC	25,03 bB	33,38 aA	37, 23 bA
Pimenta	7,66 bC	20,33 cB	22,20 cB	36, 53 cA
Testemunha	0,0 c			
D.M.S = 4,32				
C.V. (%) = 7,32				

(a) Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

(b) Concentrações em porcentagem.

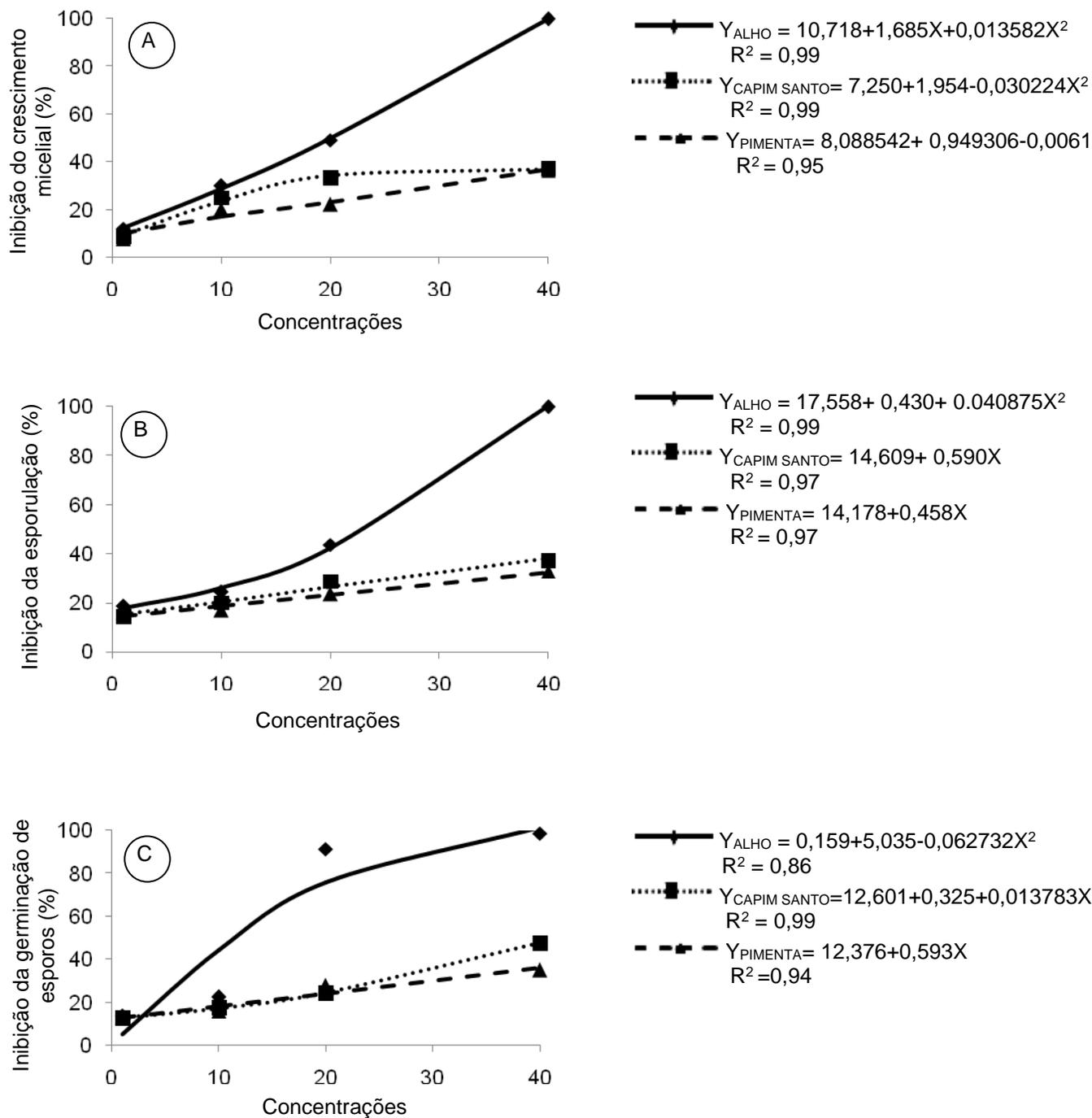


Figura 1. Efeitos *in vitro* dos extratos brutos de Alho, Capim santo e Pimenta sobre a porcentagem de inibição do: (A): crescimento micelial, (B): esporulação e (C): germinação de esporos de *F. solani*, UFAM, Humaitá-AM, 2011.

Os efeitos das diferentes concentrações dos extratos vegetais no controle da esporulação de *F. solani* podem ser verificadas na tabela 5 e figura 1. Os tratamentos utilizados neste trabalho mostram potencial de inibição sobre a esporulação de *F. solani*.

Observou-se que os extratos na concentração de 1% não apresentaram diferença estatística e que com o aumento das concentrações do extrato de alho ocorreram as maiores porcentagens de inibição da esporulação (Tabela 5: Figura 1), sendo que extrato de alho a 20% inibiu (43,73%) da germinação e a 40% houve completa inibição da esporulação fungo. Este resultado foi semelhante ao encontrado por Oliveira (2008) que observou que a utilização de extratos vegetais de alho em diferentes concentrações (20, 30 e 40%) controlou significativamente a esporulação de *F. gutiforme*.

Para os extratos com capim santo e pimenta malagueta foi observado que as concentrações diferiram estatisticamente do tratamento testemunha, sendo crescente a inibição da esporulação com o aumento das concentrações dos extratos, onde os maiores efeitos foram observados na dosagem de 40% (Tabela 5: Figura 1).

Tabela 5. Efeito de diferentes extratos vegetais sobre a inibição da esporulação de *F. solani*, UFAM, Humaitá-AM, 2011.

Tratamentos	Inibição da esporulação			
	1	10	20	40
Alho	18,7 aD	24,30 aC	43,73 aB	100 aA
Capim santo	14,29 abD	20,1 abC	28,79 bB	37, 16 bA
Pimenta	15,96 abC	16,98 bC	23,53 cB	31,33 cA
Testemunha	0,0 c			
D.M.S = 4,46				
C.V. (%) = 8,21				

(a) Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

(b) Concentrações em porcentagem.

Os dados referentes à sensibilidade da germinação de conídios de *F. solani* são apresentados na tabela 6, figura 1. Foram observados acréscimos nos percentuais de inibição da germinação dos esporos de *F. solani* em função dos extratos e do aumento das concentrações testadas. Os tratamentos com melhores desempenhos foram alcançados utilizando o extrato de alho a 40 e 20% e capim santo a 40% que inibiu (47,5%) da germinação de esporos deste fungo.

Lorenzi e Matos (2002) indicam que ervas aromáticas como o alho possuem ação bactericida e fungicida, pois apresentam em sua constituição química a alicina e a inulina, conferindo a esta planta um alto potencial de controle de variados fitopatógenos. Moraes (2004), por exemplo, observou que concentrações do extrato aquoso de alho a 20% inibiram a germinação de conídios de *F. oxysporum*. Souza *et al.*, (2007) relataram que os extratos de alho e capim-santo (*Cymbopogon citratus*) inibiram a germinação do fungo *F. proliferatum*, porém de forma mais eficiente a partir da concentração 2,5%.

Tabela 6. Efeito de diferentes extratos vegetais e concentrações sobre a porcentagem da inibição da germinação de conídios de *F. solani*, UFAM, Humaitá-AM, 2011.

Tratamentos/ Concentrações (%)	Inibição da germinação de esporos			
	1	10	20	40
Alho	14,1 aD	22,3 aC	91,4 aB	98,7 aA
Capim santo	12,6 aC	17,4 bC	24,3 bB	47,5 bA
Pimenta	13 aC	16 bC	27,7 bB	35 cA
Testemunha	0,0 b			
D.M.S = 5,02				
C.V. (%) = 6,25				

(a) Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

(b) Concentrações em percentagem.

7. CONCLUSÕES

- O melhor meio indicado para o crescimento micelial e esporulação do fungo foi BDA sob regime de luz contínua.
- O extrato de alho na concentração a 40% foi capaz de inibir completamente o crescimento micelial e a esporulação do fungo estudado, indicando ser esta uma alternativa potencial e viável no controle deste patógeno.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASTOS, C.N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipellis perniciosa* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira** v.22, p.441-443, 1997.

BENATO, E.A., SIGRIS, J.M.M., HANASHIRO, M.M., MAGALHÃES, M.J.M. & BINOTTI, C.S. Avaliação de fungicidas e produtos alternativos no controle de podridões pós-colheita em maracujá-amarelo. **Summa Phytopathologica** v.28, p.299-304, 2002.

BOLKAN, H.A.; DIANESE, J.C.; SILVA, C.B.; ARAÚJO, J.C.A. de. Influence of carbon source, light, water potencial and temperatura on growth and sporulation of *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans*. **Revista de Microbiologia**, Brasília, v.13, n.3, p.264- 271, mar. 1982.

BOLKAN, H.A.; RIBEIRO, W.L. Efeito do extrato de alho em *Cylindrocladium clavatum*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* e *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v.6, p.565-6, 1981.

CARNAÚBA, J. P.; SOBRAL, M. F.; AMORIM, E. P. R.; SILVA, J. C.; SANTOS, V. B.; FÉLIX, K. C. S. Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Scytalidium lignicola*. **Summa Phytopathologica**, v.33, p.199-200, 2007.

CARRÉ, V., ZANELLA, A.L., BECKER, A., STANGARLIN, J., PAGLIOSA, L.A., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. & GONÇALVES JR, A.C. Fungitoxicidade de quitosana e extrato de *Artemisia camphorata* a *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p:291, 2002 (Resumo).

CARVALHO, F. L. C.; SOUZA, L. da S.; CALDAS, R. C.; MATTOS, P. L. P. de. Efeito da redução do preparo do solo sobre o comportamento produtivo da mandioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 23, p.609-614, 1988.

CASTRO, N.R; COELHO, R.S.B. Caracterização fisiológica de isolados de *Cercospora cruenta* em diferentes meios de cultura. **Summa Phytopathologica**, v.26, p. 466-471, 2000.

CEBALLOS, H.; CRUZ, G.A.A. **Taxonomía e morfología de la yuca**. Cali-Colombia. 2002, 132 p.

CONCEIÇÃO, A. J. **A mandioca**. São Paulo, 1981. 382 p.

CHALFOUN, S.M.; CARVALHO, V.D. Efeito do extrato de óleo industrial de alho sobre o desenvolvimento de fungos. **Fitopatologia Brasileira**, v.12, p.234-235, 1997.

COOPERMAN, C. J.; JENKINS, S. F. Conditions influencing growth sporulation of *Cercospora asparagi* blight development in Asparagus. **Phytopathology**, v. 76, p. 617-622, 1986.

CRUZ, M. F. A.; PRESTES, A. M.; MACIEL, J. L. N. Esporulação de *Pyricularia grisea* em diferentes meios de cultura e regimes de luz. **Ciência Rural**, v.39, p.1562-1564, 2009.

DEVI, R.K.T.; SINGH, N.I. Effect of temperature and light on growth and sporulation of *Fusarium* rice sheath rot. **International Rice Research Notes**, Manila, v.19, n.3, p.28, Mar. 1994.

DINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. Boca Raton: CRC Press, 1995. 434p.

EL-SHARKAWY, M.A.; COCK, H.C.; PORTO, M.C.M. Características fotossintéticas da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**. Brasília, v.1, p.143-154, 1989.

FERREIRA, D. F. Análises Estatísticas por meio do Sisvar para Windows 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 255- 258.

FRANCO, D.A.; BETTIOL, W. Controle de *Penicillium digitatum* em pós-colheita de citros com produtos alternativos. **Fitopatologia Brasileira**, v.25, p.602-606, 2000.

FUKUDA, W.M.G; IGLESIAS, C.; SILVA, S.O. **Melhoramento de mandioca**. Cruz das Almas - Embrapa, 2003. 53p.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

HANADA, R.E., GASPAROTTO, L. & PEREIRA, J.C.R. Esporulação de *Mycosphaerella fijiensis* em diferentes meios de cultura. **Fitopatologia Brasileira**. n 27, p. 170-173. 2002.

LIMA, M. F.; TAKATSU, A.; REIFSCHNEIDER, F. J. B. Reação de genótipos de mandioca (*Manihot esculenta*) a *Phytophthora dreschesleri*. **Fitopatologia brasileira**. Brasília, v. 20, p.406-415, 1995.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP. Instituto Plantarum, 2002. 512p.

LORENZI, J.O.; DIAS, C.A.C. **Cultura da mandioca**. Campinas, Coordenadoria de Assistência Técnica Integral - CATI, 1993. 41p. (Boletim Técnico, n.211).

LOZANO, J. C.; BELLOTI, A.; REYES, J. A.; HOWELER, R.; LEIHNER, R.; DOLL, J. **Problemas no cultivo da mandioca**. Brasília, 1985. 63p.

LOZANO, J. C. Outbreaks of cassava diseases and losses induced. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 14, p.7-11. 1989.

LUKENS, R.J. Photo-inhibition of sporulation in *Alternaria solani*. **American Journal of Botany**, New York, v.50, n.7, p.721-724, 1963.

MASSOLA, N. S.; BEBENDO, I. P. Doenças da mandioca. In KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia**. São Paulo, 2005. 315-323p.

MATTOS, P. L. P.; CARDOSO, E. M. R. EMBRAPA **Mandioca e Fruticultura Sistemas de Produção**. Versão eletrônica Jan/2003. Disponível em http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Mandioca/mandioca_para/doencas.htm#topo. Acesso em 1 de Julho de 2009.

MATTOS, P. L. P.; SOUZA, A. S.; DANTAS, J. L. L.; CALDAS, R. C. Influência da rotação de culturas sobre a produtividade da mandioca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MANDIOCA, **Anais... Cruz das Almas**, Vitória, ES, v.2. p. 175-180., 1982.

MENEZES, M.; SILVA-HANLIN, D.M.W. **Guia prático para fungos fitopatogênicos**. Recife: UFRPE, 1997. 106p.

MORAIS, M. S. **Efeito de dois extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* e da incidência da murcha em feijão vagem**. 2004. 72p.

Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal da Paraíba. Areia, PB.

MOREIRA, L.M., MAY-DE MIO, L.L., ALDEBENITO SANHUEZA, R.M., LIMA, M.L.R.Z. & POSSAMAI, J.C. Controle em pós-colheita de *Monilia Fructicola* em pêssegos. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.395-398. 2002.

MUNIZ, M. F. S.; ANDRADE, F. W. R.; QUEIROZ, F. M.; MOURA FILHO, G.; MENEZES, M. Caracterização de isolados de *Phytophthora drechsleri*, agente causal da podridão mole de raízes de mandioca. **Fitopatologia Brasileira**. Brasília, v. 31, p. 195-198, 2006.

NOZAKI, M. DE H.; CAMARGO, M. E BARRETO, M. Caracterização de *Diaporthe citri* em diferentes meios de cultura, condições de temperatura e luminosidade. **Fitopatologia Brasileira**, v.29 p. 429-432, 2004.

OLIVEIRA, M. D. M. **Controle pré e pós-colheita em abacaxizeiro**. 2008. 85p. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, PB.

SATYANARAYANA, K.; SADASIVA REDDY, C. A new and cheap medium supporting the sporulation of *Pyricularia oryzae*. **Cav. Indian Journal Mycological Plant Pathology**. v. 16. p.329, 1986.

SCAPIN, C.R.; CARNELOSSI, P.R.; VIEIRA, R.A.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S. Fungitoxidade *in vitro* de extratos vegetais sobre *Exserohilum turcicum* (Pass.) Leonard & Suggs. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.12, p.57-61, 2010.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta**, v.30, p.129-37, 2000.

SERRA, I. M. R. S.; SILVA, G. S.; NASCIMENTO, F. S.; LIMA, L. K. F. *Scytalidium lignicola* em mandioca: ocorrência no Estado do Maranhão e reação de cultivares ao patógeno. **Summa Phytopathologica**, v. 35, p. 327-328, 2009.

SILVA, D.M.H. e BASTOS, C.N. Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de *Piper* sobre *Crinipellis pernicioso*, *Phytophthora palmivora* e *Phytophthora capsici*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.143-145, 2007.

SOUZA, A. E. F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L. C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, p.465-471, 2007.

STRANDBERG, J.O. Isolation, storage, and inoculum production methods for *Alternaria dauci*. **Phytopathology**, St. Paul, v.77, n.7, p.1008- 1012, 1987.

TRIONE, E.J.; LEACH, C.M. Light-induced sporulation and sporogenic substances in fungi. **Phytopathology**, St. Paul, v.59, n.8, p.1077-1083, 1969.