

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA
CURSO DE MESTRADO EM AGROECOLOGIA

DANNIELLE SILVA DA PAZ

**AÇÃO INIBITÓRIA DE EXTRATOS VEGETAIS, ÓLEO DE NIM, PRODUTOS
ABIÓTICOS E *Bacillus* SOBRE *Corynespora cassiicola*, AGENTE DA MANCHA-
ALVO DO MAMOEIRO.**

SÃO LUÍS
Maranhão – Brasil
2010

DANNIELLE SILVA DA PAZ

**AÇÃO INIBITÓRIA DE EXTRATOS VEGETAIS, ÓLEO DE NIM, PRODUTOS
ABIÓTICOS E *Bacillus* SOBRE *Corynespora cassiicola*, AGENTE DA MANCHA-
ALVO DO MAMOEIRO.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroecologia da Universidade Estadual do Maranhão como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Agroecologia.

Orientadora:

Prof^a. Dra. Antônia Alice Costa Rodrigues

SÃO LUÍS

Maranhão – Brasil

2010

Paz, Danielle Silva da

Ação inibitória de extratos vegetais, óleo de nim, produtos abióticos e *bacillus* sobre *corynespora cassiicola*, agente da mancha-alvo do mamoeiro / Danielle Silva da Paz – São Luís, 2010.

65 f.: il.

Orientadora: Antônia Alice Costa Rodrigues
Dissertação (Mestrado) – Curso Agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão, 2010.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Antônia Alice Costa Rodrigues.

1. *Carica papaya* L. 2. *Azadirachta indica* 3. *Cymbopogon nardus*
4. *Eucalyptus grandis* 5. Produtos Abióticos 6. Controle Biológico
I. Título.

CDU:

**AÇÃO INIBITÓRIA DE EXTRATOS VEGETAIS, ÓLEO DE NIM, PRODUTOS
ABIÓTICOS E *Bacillus* SOBRE *Corynespora cassiicola*, AGENTE DA MANCHA-
ALVO DO MAMOEIRO..**

DANNIELLE SILVA DA PAZ

Aprovada em: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Antônia Alice Costa Rodrigues (Orientadora)
Doutora em Fitopatologia
Universidade Estadual do Maranhão/UEMA

Prof^o. Dr. José Ribamar Gusmão Araujo
Doutor em Agronomia
Universidade Estadual do Maranhão/UEMA

Prof^o. Dr. Flávio Henrique Reis Moraes
Doutor em Agronomia
Centro Universitário do Maranhão/ UNICEUMA

Ao meu Deus, Senhor da minha vida, pelo seu amor incondicional

Ofereço

Aos meus pais, Raimundo e Dalva, pelo amor, incentivo e confiança, e todos seus sacrifícios para que eu pudesse alcançar meus sonhos.

Aos meus irmãos, José Wendell e Fernanda, pelo apoio nos momentos difíceis e desfrutando alegrias, firmados no Senhor.

A Cláudia e aos meus sobrinhos Rebecca, Samuell e Rafaell, bênçãos do Senhor em minha vida.

A minha avó, Teresinha, exemplo de mulher e conquista em meio às adversidades

Dedico

À minha orientadora, Antônia Alice, pelo apoio, amizade e confiança.

v

Agradeço

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, meu Pai, que me deu a vida.

A toda minha família por estar ao meu lado.

Aos meus pais, Raimundo e Dalva, pelo amor, carinho e por nunca deixar de acreditar no meu potencial.

Aos meus irmãos pelo carinho e apoio.

Aos meus líderes Pr. Pedro e Pra. Nilma pelas orientações, orações e amor.

À Profª. Dra. Antônia Alice costa Rodrigues, minha orientadora, pela oportunidade, orientação, amizade e carinho, que me acolheu e me guiou nos primeiros passos na pesquisa fitopatológica.

Ao Profº. Dr. José Ribamar Gusmão Araujo, importante em minha caminhada acadêmica.

À Universidade de Estadual do Maranhão e Pós-graduação em Agroecologia, pela oportunidade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico do Estado do Maranhão (FAPEMA), pela concessão de bolsa de Mestrado.

À equipe do Laboratório de Fitopatologia, Neto, Mônica, Diogo e Flávia, em especial à Nathália e Leonardo, pelo convívio, amizade e ajuda preciosa para a realização desta pesquisa.

Aos meus amigos da graduação, Josevane, Leandra, Priscila, Bianca, Marcelo e Anselmo, em especial, a Daniele Lavra, que estiveram sempre ao meu lado, pela amizade, carinho e auxílio.

Aos meus amigos do G7, Geison, Adenilson, Neto, Fernando, Renato e Sylvia, pelos momentos divertidos e difíceis durante o curso.

A todos os professores do mestrado pelos valiosos ensinamentos aprendidos durante este curso.

Aos funcionários do Núcleo de Biotecnologia Agronômica/UEMA, que contribuíram com esta pesquisa.

A todos aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho.

Bem-aventurado o homem que suporta a provação;
 porque, depois de ter sido aprovado, receberá a coroa
 da vida, ao qual o Senhor prometeu aos que o amam ^{vii}
 (Tiago 1.12)

SUMÁRIO

| | Páginas |
|--|------------|
| LISTA DE FIGURAS | <i>ix</i> |
| LISTA DE TABELAS | <i>x</i> |
| RESUMO | <i>xi</i> |
| ABSTRACT | <i>xii</i> |
| 1 INTRODUÇÃO | 13 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 15 |
| 2.1 O Hospedeiro: Mamoeiro (<i>Carica papaya</i> L.) | 15 |
| 2.2 A Doença: Mancha-alvo do Mamoeiro | 16 |
| 2.2.1 O Patógeno: <i>Corynespora cassiicola</i> (Berk & Curt.) Wei | 16 |
| 2.2.2 Descrição da Doença | 17 |
| 2.3 Manejo Ecológico de Doenças | 18 |
| 2.3.1 Extratos Vegetais | 18 |

| | | |
|-------|--|----|
| 2.3.2 | Controle Biológico | 23 |
| 2.3.3 | Indução de Resistência | 26 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS | 29 |
| 3.1 | Localização do Experimento | 29 |
| 3.2 | Caracterização da Doença em Mamoeiros e de <i>C. cassiicola</i> | 29 |
| 3.3 | Obtenção dos Isolados do <i>Bacillus</i> spp., Extratos Vegetais, Óleo de Nim e Produtos Abióticos | 30 |
| 3.4 | Efeito de Extratos Vegetais e Óleo de Nim sobre <i>C. cassiicola</i> | 31 |
| 3.5 | Efeito Fungistático de <i>Bacillus</i> spp. sobre <i>C. cassiicola</i> | 32 |
| 3.6 | Efeito de Produtos Abióticos na Inibição do Crescimento Micelial de <i>C. cassiicola</i> | 33 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 34 |
| 4.1 | Caracterização da Doença em Mamoeiros e de <i>C. cassiicola</i> | 34 |
| 4.2 | Efeito de Extratos Vegetais e Óleo de Nim sobre <i>C. cassiicola</i> | 38 |
| 4.3 | Efeito Fungistático de <i>Bacillus</i> spp. sobre o fungo <i>C. cassiicola in vitro</i> | 43 |
| 4.4 | Efeito Fungitóxico de Produtos Abióticos na Inibição do Crescimento Micelial de <i>C. cassiicola</i> | 45 |
| 5 | CONCLUSÃO | 49 |
| | REFERÊNCIAS | |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-----------|--|----|
| Figura 1. | Molécula de Azadiractina | 20 |
| Figura 2. | Molécula de Citronelol | 21 |
| Figura 3. | Lesões características de <i>C. cassiicola</i> em folhas de mamoeiro: Sintomas iniciais (A) e lesões generalizadas em folhas mais velhas, exibindo forte amarelecimento (B) | 36 |
| Figura 4. | Estruturas do fungo <i>C. cassiicola</i> : Conídios de tamanhos variados (A); Formato reto ou ligeiramente curvo (B); Septados e exibindo hilo escuro na extremidade (C); Aspecto da colônia em meio BDA ... | 37 |
| Figura 5. | Folhas de mamoeiro apresentando sintomas iniciais da Mancha-alvo após a inoculação com <i>C. cassiicola</i> | 38 |
| Figura 6. | Efeito de Extratos de Nim, Citronela e Eucalipto sobre o crescimento micelial de <i>C. cassiicola</i> | 41 |
| Figura 7. | Efeito de Óleo de <i>Azadiractina indica</i> (nim) nas concentrações 0; | |

| | | |
|-----------|---|----|
| | 1,25; 2,5; 3,25 e 5 % na inibição de <i>C. cassiicola</i> em meio BDA | 42 |
| Figura 8. | Percentual de inibição do crescimento micelial de <i>C. cassiicola</i> na presença de Stubble-Aid® e Ecolife® | 48 |

x

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-----------|---|----|
| Tabela 1. | Isolados de <i>Bacillus</i> obtidos na Micoteca do Laboratório de Fitopatologia da UEMA | 31 |
| Tabela 2. | Avaliação da Mancha-alvo em variedades/seleções de mamoeiro com 2-3 meses de idade na Fazenda Escola da UEMA | 34 |
| Tabela 3. | Diâmetro médio da colônia e porcentagem de inibição do crescimento micelial de <i>C. cassiicola</i> exposto a diferentes concentrações de extratos de nim, citronela e eucalipto, após dez dias de incubação a 25 °C±2 °C em meio BDA | 39 |
| Tabela 4. | Efeito de isolados de <i>Bacillus</i> sobre o crescimento micelial <i>in vitro</i> de <i>C. cassiicola</i> em meio BDA, avaliados no 5º, 7º, 10º e 12º dias de incubação | 43 |
| Tabela 5. | Efeito dos produtos abióticos Ecolife® e Stubble-Aid® sobre o | |

| | |
|--|----|
| crescimento micelial <i>in vitro</i> de <i>C. cassiicola</i> em meio BDA, mantidas por 10 dias de incubação (25°C±2°C). | 46 |
|--|----|

ACÇÃO INIBITÓRIA DE EXTRATOS VEGETAIS, ÓLEO DE NIM, PRODUTOS ABIÓTICOS E *Bacillus* SOBRE *Corynespora cassiicola*, AGENTE DA MANCHA-ALVO DO MAMOEIRO.

RESUMO – A Mancha-alvo do mamoeiro, causada pelo fungo *C. cassiicola*, é uma doença que tem atraído maior atenção nos últimos anos devido a surtos precoces e intensos, que resultam em danos à produção do mamão. Portanto, objetivou-se caracterizar a doença em campo, comprovar a patogenicidade do fungo causador da doença, caracterizar o patógeno, testar o efeito de extratos de nim, citronela e eucalipto, óleo de nim, avaliar o efeito de isolados de *Bacillus*, além dos produtos Ecolife® e Stubble-Aid® sobre *C. cassiicola*. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e na Área Experimental da Fazenda Escola de São Luís da UEMA, foi instalado no esquema de blocos casualizados, com quatro repetições, onze tratamentos (variedades e seleções), sendo seis plantas/parcela. Os parâmetros avaliados em campo, sob condições de infecção natural, foram: a) número de folhas/planta; b) números de folhas com lesões; e, c) número de lesões/folha. Para a inibição do crescimento micelial *in vitro* de *C. cassiicola* adicionou-se os extratos aquosos de nim, citronela e eucalipto a 10, 15 e 20 %, óleo de nim a 0; 1,25; 2,5; 3,75 e 5 %, e produtos Ecolife® e Stubble-Aid® a 0,25; 0,5; 0,75; 1 % em meio BDA. Na avaliação do efeito de *Bacillus* foram utilizados nove isolados, avaliados através do percentual de inibição. Todas as variedades e seleções apresentaram-se doentes, variando 89,69 a 100 %, de lesões/folha, ocasionando a redução do desenvolvimento das plantas. A seleção Golden apresentou número de lesões/folha de ordem 17,87, mostrando-se promissora para programas de melhoramento

genético visando à obtenção de cultivares menos susceptíveis a esta doença. As seleções Canaã Sunrise Solo e Canaã Golden apresentaram número de lesões/folhas, 98,75 e 77,12, respectivamente. Os sintomas iniciaram por pontuações brancas, com halo amarelado, evoluindo para manchas circulares marrom. Os conídios do fungo *C. cassiicola* em meio BDA apresentaram formatos retos e ligeiramente curvos, constituindo de 3 – 8 septos, medindo 76,76 – 165,26 µm de largura e 13,50 – 21,90 µm (média de 16,54 x 98,15 µm) apresentando hilo na junção do conídio com o conidióforo. O óleo de nim e extratos de nim, citronela e eucalipto apresentaram efeito inibitório sobre o crescimento micelial de *C. cassiicola*. Ressaltando-se que óleo de nim atingiu percentuais de inibição variando de 61,66 a 69,88 % nos quatro períodos de avaliação, mostrando-se efetivo em baixas concentrações. Os isolados de *Bacillus* apresentaram potencial antagonico sob o crescimento micelial *in vitro* de *C. cassiicola*. Todavia o isolado 31 mostrou-se mais promissor como agente de controle biológico, apresentando percentual de inibição de 63,36 %. Os produtos Ecolife® e Stubble-Aid®, em todas as concentrações inibiram o crescimento de *C. cassiicola*, variando de 31,56 a 100 %. Estes resultados indicam que o uso de alternativas de controle apresenta potencial no manejo da Mancha-alvo do mamoeiro.

xii

Palavras-chave: *Carica papaya* L., *Azadirachta indica*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus grandis*, Produtos Abióticos, Controle Biológico

INHIBITORY ACTION OF EXTRACTS, NEEM OIL, and *Bacillus* ABIOTICS PRODUCTS ON *Corynespora cassiicola*, AGENT OF THE TARGET SPOT PAPAYA.

ABSTRACT - The Spot target of papaya caused by the fungus *C. cassiicola*, is a disease that has attracted increasing attention in recent years due to early outbreaks and intense, resulting in damage to the production of papaya. Therefore, the objective was to characterize the disease in the field, proving the pathogenicity of the fungus causing the disease, pathogen characterization, test the effect aqueous extracts of neem, citronella and eucalyptus, neem oil, to evaluate the effect of isolates *Bacillus*, apart from in abiotics products Ecolife® and Stubble-Aid® on the fungus *C. cassiicola*. The experiments were conducted at the Laboratory of Plant Pathology and at the Experimental Farm of the School of São Luís/UEMA, this was conducted in a randomized block design, with four replications and eleven treatments (varieties and selections), with six plants each. To take the data from the characterization of the disease, the pathogen and the confirmation of the causative agent was considered two useful plants (central) in the plot. The parameters evaluated in the field under conditions of natural infection were: a) number of leaves/plant, b) number of leaves with lesions, and c) number of lesions/leaf. For the inhibition of *in vitro* mycelial growth of *C. cassiicola* added to the neem oil at 0; 1,25; 2,5; 3,75 and 5%, to the aqueous extracts of neem, citronella and eucalyptus to 10, 15 and 20% and abiotics products Ecolife® and Stubble-Aid® to 0; 0,25; 0,5; 0,75 and 1% on PDA. In assessing the fungistatic effect of *Bacillus* were nine isolates, assessed by the percentage of inhibition. All varieties and selections provided to patients ranged from 89,69 to 100 % of lesions per leaf, causing a reduction of plant

development. The selection Golden presented lesions/leaf of order 17,87 showing some promise in breeding programs aimed at obtaining cultivars less susceptible to this disease. Selections Canaã Golden and Canaã Sunrise Solo showed lesions/leaf, 98,75 and 77,12, respectively. Symptoms started by white dots, with yellow halo, evolving into brown circular spots. Spores of the fungus *C. cassiicola* on PDA showed formats straight and slightly curved, forming 3-8 septa, measuring 76,76 – 165,26 µm length and 13,50 – 2190 µm wide (average of 16,54 x 98,15 µm) hilum presenting at the junction of the conidiophore with conidia. The neem oil and extracts of neem, citronella and eucalyptus showed inhibitory effect on mycelial growth of *C. cassiicola*. Emphasizing that neem oil hit percentage of inhibition ranging from 61,66 to 69,88 % in the four periods, shown to be effective at low concentrations. The *Bacillus* isolates showed antagonistic potential *in vitro* mycelial growth of *C. cassiicola*. However the isolates 31 were more promising as a biological control agent, showing percentage inhibition of 63,36 %. The products Ecolife ® and Stubble-Aid ®, in all concentrations inhibited the growth of *C. cassiicola*, ranging from 31,56 to 100 %. These results indicate that the use of alternative control has potential in the management of Target Spot of papaya.

Keywords: *Carica papaya* L., *Azadirachta indica*, *Cymbopogon nardus*, *Eucalyptus grandis*, Abiotic Products, Biological Control.

1 INTRODUÇÃO

O mamoeiro é considerado uma das fruteiras mais cultivadas e consumidas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. A produção de mamão representa 10 % da produção mundial de frutas tropicais, girando em torno de 8 milhões de toneladas, das quais 39 % são produzidas na América Latina e Caribe. Os principais produtores mundiais são o Brasil, México, Nigéria, Índia e Indonésia, enquanto os maiores exportadores são o México e a Malásia (FAO, 2010).

As doenças do mamoeiro destacam-se economicamente, pois a presença destas acarreta severas perdas econômicas na produção, comercialização e exportação de frutos *in natura*, podendo chegar, em alguns casos, a 100 % (VENTURA et al., 2003).

A Mancha-alvo, também denominada de Mancha de *Corynespora* ou Corinesporiose causadas pelo fungo *C. cassicola* é uma doença que tem atraído maior atenção, devido a surtos precoces e intensos, que resultam em danos à produção do mamão (OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2006).

A doença tem ampla distribuição geográfica e apresenta uma gama de hospedeiros causando manchas foliares em mais de 70 espécies de hospedeiros (SILVA et al., 1995; SILVA et al., 1998). Este fungo tem sido relatado em um grande número de culturas importantes em países de clima tropical e subtropical (BRETON et al., 2000), entre as quais pode-se citar o tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (LEROY; LOURD, 1989), pepino (*Cucumis sativus* L.) (VERZIGNASSI et al., 2003), soja (*Glycine Max* L. Merr.) (YORINORI; HOMECHIN, 1977), feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.), mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), seringueira (*Hevea brasiliensis* L.) (OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2006).

No Maranhão, *C. cassicola* é comumente encontrado em diversos hospedeiros, destacando-se o mamoeiro (DUARTE et. al., 1983; SILVA et al., 1997) e aceroleira (*Malpighia glabra* L.), causando problemas em folhas e frutos (SILVA et al., 1997). Também é citado como patógeno em plantas daninhas, tais como trapoeraba (*Commelina benghalensis* L.), assapeixe (*Vernonia cinerea*) (SOUZA; SILVA, 2001), e constituindo uma importante fonte de inóculo, principalmente em condições climáticas favoráveis (CUTRIM; SILVA, 2003).

O fungo *C. cassicola* também foi relatado em lantana (*Lantana camara* L.) (PEREIRA; BARRETO, 2000), boldo-de-jardim (*Coleus barbatus* Benth.) (FERNANDES; BARRETO, 2003) e croton (*Codiaeum variegatum* (L.) A. Juss.) (JAYASURIYA; THENNAKOON, 2007).

A Mancha-alvo tem ocorrido com intensidade nas estufas plásticas nos períodos de primavera e verão, atingindo níveis epidêmicos, dentro de poucos dias após a visualização dos primeiros sintomas nas plantas. Estimativas realizadas através de comparações entre produtividade de cultivos sadios e de cultivos com epidemias da Mancha-alvo demonstraram redução em torno de 60 % da produção (VERZIGNASSI et al., 2003).

Atualmente uma das alternativas pesquisadas, envolve o uso de extratos vegetais, buscando explorar suas propriedades fungitóxicas. Relatos têm mostrado a eficiência desses extratos obtidos de uma gama enorme de espécies botânicas, promovendo a inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica (KURITA et al., 1981; WILSON et al., 1997; BONALDO et al. 2007; DIAS-ARIEIRA et al., 2010). Os extratos de plantas podem apresentar efeito direto sobre o fungo, alterando a germinação, formação de apressórios, crescimento de hifas ou produção de esporos, ou ainda apresentar efeito sobre a planta, através da indução de mecanismos de resistências (FIORI et al., 2000; MOTOYAMA et al., 2003; BONALDO et al., 2004; MOREIRA et al., 2008).

Várias espécies de *Bacillus* são antagonistas de fungos fitopatogênicos podendo ser usadas em programas de controle biológico (WILHELM et al., 1998; WULFF et al., 2002; SCHISLER et al., 2004; ANGONESE et al., 2009), sendo promissoras no controle de fitopatógenos pela sua capacidade de produção de compostos antibióticos com ação antifúngica (BATISTA JÚNIOR et al., 2002; KUPPER et al., 2003) e principalmente, por manterem sua viabilidade quando estocadas por longos períodos (PETRAS; CASIDA, 1985).

Bonaldo et al. (2005) considera a indução de resistência uma proposta promissora no controle de várias doenças, podendo ser efetiva contra diversos patógenos, incluindo vírus, bactérias, nematóides e fungos. Têm ocorrido avanços nas pesquisas envolvendo a indução no controle de doenças de plantas, podendo ser ativada por elicitores bióticos ou abióticos. Representa um método de controle alternativo, que juntamente com outros, dentro de um programa de manejo integrado, pode evitar ou atrasar a entrada ou a subsequente atividade do patógeno nos tecidos das plantas (CAVALCANTI et al., 2006; RESENDE et al., 2007).

A determinação de métodos eficientes de controle da doença menos agressivos ao ambiente é necessária. Dessa forma, com este trabalho objetivou-se caracterizar a doença comprovar a patogenicidade do fungo, caracterizar o patógeno, testar o efeito fungitóxico de extratos de nim, citronela e eucalipto, óleo de nim, avaliar o efeito fungistático de isolados de *Bacillus*, além dos produtos abióticos Ecolife® e Stubble-Aid® sobre o fungo *C. cassicola*, agente da Mancha-alvo do mamoeiro.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 O Hospedeiro: Mamoeiro (*Carica papaya* L.)

O mamoeiro (*Carica papaya* L.) é uma planta pertencente à classe Dicotyledonae, ordem Violales e à família Caricaceae. Essa família apresenta quatro gêneros, com 30 espécies, distribuídas em: *Carica* (21 espécies), *Jacaratia* (seis espécies), *Cylicomorpha* (duas espécies) e *Jarilla* (uma espécie). *Carica papaya*, uma das 21 espécies do gênero *Carica*, é considerada a única com frutos comestíveis e de interesse comercial (MANICA, 2006).

É cultivado em quase todos os estados brasileiros, sendo que Bahia e Espírito Santo, os maiores produtores de mamão, respondem por cerca de 80 % da produção nacional. Em 2009, o Brasil produziu 1.792.594 toneladas em uma área cultivada de 21.825 ha, para o Nordeste a produção foi de 1.168,174 toneladas, atingindo 65,16 % da produção nacional de mamão. O Maranhão produziu 1.449 toneladas em uma área de 127 ha, atingindo rendimento de 11,4 t/ha, situando-se no 19º lugar da produção nacional de mamão (IBGE, 2009).

As características que se destacam nesta cultura são a grande densidade de plantas por hectare, rápido desenvolvimento, fácil propagação através da semente, alta produtividade e distribuição da colheita em todos os meses do ano em regiões de clima tropical, com chuvas regulares ou através de irrigação nos locais de pouca chuva ou período seco (OLIVEIRA JÚNIOR, 2006).

O mamoeiro é uma planta classificada como perene, porém de curta duração (entre 3 a 8 anos), é sempre verde, suculenta e geralmente apresenta caule cilíndrico, ereto, único, sem ramificações, com altura de 2 a 6 metros e diâmetro de 25 a 38 cm, com caule oco, exceto nas regiões dos nós. É formado por folhas simples e alternadas, com longos pecíolos, sendo palmatilobadas e composta por 7 a 13 lobos; o sistema radicular é axial ou pivotante, com a raiz principal bem desenvolvida, ramificando-se em forma radial (MANICA, 2006).

O Fruto é uma baga, caracterizado como fruto simples, carnoso, indescente, com várias sementes, apresenta as formas arredondado, cilíndrico, piriforme, alongado, elipsóide, esférica ou esferoidal, oblonga, ovóide ou sulcada; coloração da casca inicialmente verde, passando para amarelo ou alaranjado quando maduro; consistência polposa, grossa, de coloração amarelada, alaranjada, avermelhada ou rosada, macia e ligeiramente doce, suculenta, com sementes pardas ou pretas que se inserem na cavidade interna do fruto. O sexo da flor do mamoeiro determina a existência de mamoeiros masculinos (mamão macho),

mamoeiros femininos e mamoeiros hermafroditas. As flores podem ser femininas (pistiladas), hermafroditas ou masculinas (estaminadas) (MANICA, 2006).

O cultivo do mamoeiro no Brasil, além da grande importância econômica, apresenta aspecto social, como gerador de emprego e renda, absorvendo um elevado contingente de mão de obra durante o ano todo, pela constante necessidade de manejo, tratamentos culturais, colheita e comercialização, efetuadas de maneira contínua nas lavouras, além da renovação dos plantios, em média, a cada três anos (BENASSI, 2006).

A cultura do mamoeiro é alvo constante de inúmeras doenças, tais como mancha anelar, amarelo letal, meleira, antracnose, varíola, podridões de *Phytophthora*, oídio, nematóide-das-galhas, nematóide reniforme entre outras, que são capazes de causar danos de até 100 % na produção (VENTURA et al., 2004).

2.2 A Doença: Mancha-alvo do Mamoeiro

2.2.1 O Patógeno: *Corynespora cassiicola* (Berk & Curt.) Wei.

O agente causal da Mancha-alvo do mamoeiro é o fungo *C. cassiicola*, pertencente à classe dos Deuteromicetos, subclasse Hyphomycetidae, família Dematiaceae, gênero *Corynespora* e espécie *cassiicola* (BARNET; HUNTER, 1972). De acordo com a nova classificação, a classe dos Deuteromicetos mudou para fungos mitospóricos, que são fungos imperfeitos, sem forma perfeita definida, correspondente a Ascomycetos ou Basidiomicetos, classificados pela ausência ou não constatação de estruturas decorrentes de reprodução sexuada (ALEXOPOULOS et al., 1996).

O patógeno produz conídios isolados ou em cadeia, em número de dois a seis, hialino a marrom, dilatados na base, retos ou ligeiramente curvos, com 3 a 20 septos, medindo 39-520 x 7-22 µm (média 135 X 8 µm) (ELLIS, 1971; SNOW; BERGGREN, 1989).

De acordo com Snow; Berggren (1989) a temperatura para o desenvolvimento do patógeno varia de 18 a 21°C (min. 7 °C, máx. 39 °C). O micélio em meio de cultura é branco e floculento, tornando-se mais tarde cinza escuro, constituído de um emaranhado preto oliváceo. Contudo, em trabalho desenvolvido sobre a diferenciação de isolados de *C. cassiicola*, Almeida et al. (1994) demonstraram que o fungo se desenvolve lentamente em meio de cultura BDA, formando um micélio de tonalidade escura e de coloração cinza-esverdeada.

Por ser um patógeno necrotrófico, o fungo *C. cassiicola* pode sobreviver em restos culturais, plantas voluntárias, em sementes e em hospedeiros alternativos. Além disso, o patógeno pode colonizar restos culturais de um grande número de espécies vegetais (SNOW & BERGGREN, 1989). Ellis (1971) descreveu *C. cassiicola* como sendo uma espécie cosmopolita e inespecífica, comum e abundante em regiões tropicais, causando manchas foliares sobre diversas plantas hospedeiras, incluindo espécies de importância econômica.

De acordo Almeida et al. (2005), é disseminado por gotas de chuva e pelo vento, este por sua vez, é o agente responsável pela remoção dos conídios e pelo transporte do inóculo. A remoção, o transporte para outras plantas ou lavouras e a deposição são favorecidos pelo tempo seco.

Esporos de patógenos foliares, como *C. cassiicola*, após serem depositados na superfície do hospedeiro, se fixam e emitem o tubo germinativo para iniciar o processo de penetração. Temperaturas entre 20 a 24 °C e alta umidade relativa favorecem a infecção pelo patógeno (OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2006).

2.2.2 Descrição da Doença

A Mancha-alvo causada pelo fungo *C. cassiicola* pode ocorrer no caule, fruto, pecíolo e limbo foliar do mamoeiro, sua incidência é maior em plantas com idade acima de quatro meses e nos meses mais frios do ano, quando as lesões na folhas são em grande número, principalmente nas mais velhas, estas amarelecem e caem (VENTURA et al., 2003). O nome da doença se deve aos anéis concêntricos, mais escuros no centro e halos amarelos presentes nas manchas, que lembram o formato de um alvo (ALMEIDA et al, 2005).

É uma doença que tem atraído maior atenção nos últimos anos devido a surtos precoces e intensos, que resultam em danos à produção do mamoeiro. Quando a severidade desta é alta nas folhas, poderá atingir os frutos, desvalorizando-os comercialmente. Por se tratar de uma doença pouco estudada, as estratégias adotadas para seu controle são empíricas e não incluem informações sobre a epidemiologia. Além disso, uma das maiores dificuldades encontradas pelos produtores e técnicos, para o controle, é a falta de informações sobre os níveis de controle e como avaliar a planta utilizando esses níveis (ANDRADE et al., 2003).

Para reduzir a quantidade de inóculo no pomar, recomenda-se a remoção das folhas com alto grau de senescência e altamente infectadas (VENTURA et al., 2003), assim como, a queima dos restos culturais e aplicação de fungicidas protetores (OLIVEIRA; SANTOS FILHO, 2006).

2.3 Manejo Ecológico de Doenças

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. Esse enfoque altera as prioridades dos sistemas convencionais de agricultura, em relação ao uso de fontes não renováveis, principalmente de energia, e muda a visão sobre os níveis adequados do balanço entre a produção de alimentos e os impactos no ambiente. As alterações implicam na redução da dependência de produtos químicos e outros insumos energéticos e o maior uso de processos biológicos nos sistemas agrícolas (GHINI; BETTIOL, 2000).

No manejo ecológico de doenças, o objetivo é a redução da capacidade de patógenos causarem perdas significativas na produção, evitando-se desequilíbrios ambientais, ao mesmo tempo em que se procura reduzir a dependência de insumos aos agroecossistemas incluindo-se a introdução de espécies exóticas. Pode ocorrer de maneira espontânea, ou como resultado da manipulação pelo homem, sendo condicionado por mecanismos de controle biológico ligados aos patógenos, aos hospedeiros ou ao meio ambiente, bem como por aspectos culturais dos agricultores e demais agentes de desenvolvimento (SOGLIO, 2004).

O uso de óleos e de extratos de folhas de algumas espécies vegetais tem se mostrado eficientes no controle de doenças de plantas. Estas substâncias extraídas das plantas são mais baratas que os fungicidas, facilmente disponíveis ao agricultor, apresentam baixo nível de intoxicação humana e poluição do meio ambiente, podendo ser encontrada na própria propriedade agrícola (MARTINEZ, 2002). De acordo Kruppa; Russomano (2009) a utilização de extratos vegetais brutos ou óleos essenciais também se mostra promissora no controle de fitopatógenos.

É crescente a busca por técnicas de biocontrole de doenças na agricultura, inúmeras pesquisas estão sendo realizadas à procura de substâncias naturais bioativas, que além de serem utilizadas no manejo de doenças de plantas, venham minimizar os efeitos de resíduos no meio ambiente.

2.3.1 Extratos Vegetais

A intervenção para o controle de doenças de plantas é feita, normalmente, através de agroquímicos. O uso racional desses produtos pode ter, em curto prazo, um efeito satisfatório, no entanto, em longo prazo, torna-se danoso ao ambiente e ao próprio produtor, além de

proporcionar o surgimento de isolados de fitopatógenos resistentes às substâncias químicas utilizadas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003).

Em todo o mundo é crescente a procura por alimentos mais nutritivos e sem substâncias tóxicas, como resultado da preocupação com a contaminação ambiental e dos alimentos, pelo uso indiscriminado de pesticidas na agricultura. A busca por produtos naturais que sejam eficientes no controle de doenças de plantas tem aumentado nos últimos anos, visando obter alternativas aos fungicidas sintéticos e que não apresentem os efeitos negativos à saúde humana e ao meio ambiente (CARNEIRO et al., 2007).

Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial, obtido através de plantas medicinais da flora nativa, têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto à indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características de elicitores (SCHWAN-ESTRADA, 2002.)

Nim (*Azadirachta indica* A. Juss.)

O nim é uma árvore da família Meliaceae, é conhecido há séculos, principalmente na Índia, por sua ação medicinal, e nas últimas décadas seu estudo têm se difundido devido às substâncias inseticidas presentes nas folhas e frutos (CARNEIRO et al., 2007).

A espécie *A. indica*, popularmente conhecida como nim indiano e amargosa, é uma árvore nativa da Índia, característica de clima tropical. No Brasil, foi introduzida oficialmente em 1984 e, atualmente, pode ser encontrada em todas as regiões do País, com destaque para o município de Barreiras, no oeste da Bahia. O grande atrativo do nim é o seu elevado conteúdo de azadirachtina (Figura 1), um princípio ativo que vem demonstrando grande eficácia no combate a diversas pragas e doenças que atacam plantas e animais e mais eficiente (SOARES et al., 2010).

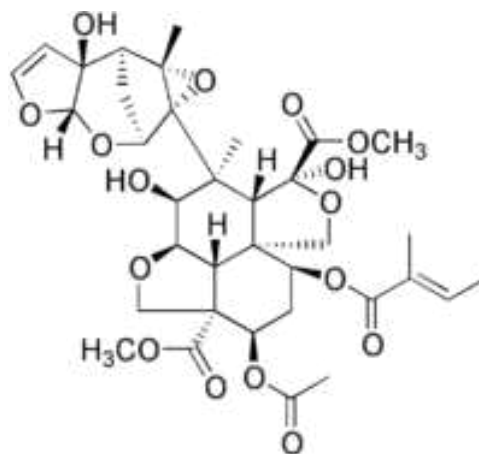


Figura 1. Molécula de Azadiractina

Muitos compostos biologicamente ativos podem ser extraídos de diferentes partes da árvore do nim, entre eles estão: azadiractina, meliantriol, limoneno, odoratone e outros triterpenóides, entre os mais de 100 compostos já isolados (SIDIQUI et al., 2003). Estes são reconhecidos pelas múltiplas propriedades terapêuticas, inseticidas, nematicidas e fungicidas (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005).

Diversas substâncias têm sido isoladas de *A. indica*, a azadiractina e os terpenóides são substâncias mais comumente citadas com esta atividade. Govindachari et al. (1998) observaram que a azadiractina, quando usada pura, não apresenta atividade antifúngica expressiva, porém, seu efeito é acentuado quando se adiciona terpenóides, indicando o efeito sinérgico destas substâncias.

Esses compostos têm grande potencial no controle de pragas, causando baixo impacto ao ambiente. Nos últimos anos, vários artigos foram publicados avaliando a eficácia do nim para o controle de fungos como *Pyricularia oryzae* (Cavara) (AMADIOHA, 2000), *Erysiphe pisi* DC. (SINGH; PRITHIVIRAJ, 1997; PRITHIVIRAJ et al., 1998), *Plasmopara viticola* (Berk. & Curt) Berl. & De Toni (STEINHAUER, 1999) e *Alternaria helianthi* (Hansf.) (CHATTOPADHYAY, 1999), causadores de importantes doenças em culturas agrícolas.

Pesquisa realizada por Carneiro et al. (2007) avaliando a eficácia de nim no controle oídio do feijoeiro constatou que o óleo e os extratos das sementes de nim controlaram a doença em casa de vegetação, reduzindo até 65 % o números de lesões nas folhas, e podem ser uma boa alternativa para o uso em cultivos agroecológicos. Este óleo mostrou-se eficiente no controle do oídio do tomateiro, quando aplicado nas concentrações de 0,25 e 0,5 % (CARNEIRO, 2003).

Trabalho realizado por Dias-Arieira et al. (2010), utilizando óleo de nim no controle de *Colletotrichum acutatum* Simmonds observaram que inibições superiores a 75 % foram obtidas sobre o fungo quando exposto ao óleo de nim, nas concentrações acima de 0,5 %.

Citronela (*Cymbopogon nardus* (L.) Rendle)

O gênero *Cymbopogon* pertence à família Poaceae e apresenta cerca de 140 espécies em todo o mundo, sendo 52 espécies conhecidas na África, 45 na Índia, seis na Austrália e América do Sul, quatro na Europa, duas na América do Norte, e as demais estão distribuídas no sudeste da Ásia (KHANUJA et al, 2005).

O Capim-citronela é uma planta medicinal e aromática, a qual tem crescido em importância no Brasil devido à grande procura pelo seu óleo essencial, tanto no mercado interno, quanto para exportação. O óleo extraído de suas folhas é rico em aldeído citronelal, aproximadamente 40 %, e tem pequenas quantidades de geraniol, citronelol (Figura 2) e ésteres (QUINTANS-JÚNIOR et al, 2008).

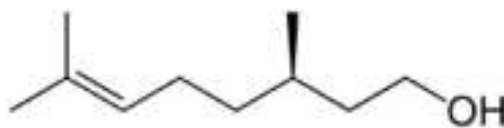


Figura 2. Molécula do Citronelol

O citronelol é excelente aromatizante de ambientes e repelente de insetos, além de apresentar ação antimicrobiana local e acaricida (JAMES; REYNOLDS, 1989), na medicina tradicional como analgésico, ansiolítico e anticonsultivante (QUINTANS-JÚNIOR et al, 2008).

Schwan-Estrada et al. (2003) em pesquisa realizadas com plantas oriundas da flora brasileira, dentre elas a citronela, verificaram ação no controle de doenças, seja por atividade fungitóxica ou como indutoras da produção de fitoalexinas.

Wilson et al. (1997), utilizando extrato bruto de *C. nardus* não obtiveram efeito fungitóxico sobre *Botrytis cinerea* (de Bary) Whetzel, contudo, efeito fungitóxico foi observado pelos mesmo autores quando utilizaram o óleo essencial de *C. nardus* na concentração de 6,25 % sobre o mesmo fungo. De acordo com Medice et al. (2007), esse mesmo óleo na concentração de 0,5 % apresentou efeito fungistático sobre *Phakopsora pachyrhizi* (Syd. & P. Syd.) inibiram 100 % a germinação dos urediniosporos em meio ágar-

água. Em casa de vegetação, retardou a evolução da doença quando comparado com o controle, sendo que a severidade foi reduzida em média de 34,6 a 62,3% das cultivares testadas.

Em pesquisa realizada por Moreira et al. (2008) avaliando frações de extrato etanólico e metanólico de *C. nardus* não observaram efeito sobre o desenvolvimento de *Colletotrichum lagenarium* (Pass.) Penz.& Sacc.

Eucalipto (*Eucalyptus grandis* L.)

É uma árvore de grande porte, cultivada principalmente nas Américas e na Austrália, que pertence à família das Mirtáceas. No Brasil, ele é encontrado em todas as regiões, sendo conhecidas cerca de 400 espécies, das quais são aproveitadas desde o caule, de onde se extrai a celulose para a indústria de papel, até as folhas, na extração de óleo essencial (ESTANISLAU et al., 2001).

Diversas substâncias com efeito antifúngico têm sido isoladas de *E. citriodora*, destacando-se principalmente o citronelol com aproximadamente 85 %, além de gerandiol, isopulegol, cineol, estragol, α e β pipeno, β cimeno, entre outras (COSTA, 1986).

O Eucalipto destaca-se pela sua importância do ponto de vista das qualidades medicinais, além de sua utilização como óleo essencial extraído das folhas do eucalipto que mostram atividade antimicrobiana e antifúngica (CIMANGA et al., 2002; DELASQUIS et al., 2002).

Em pesquisa realizada por Rodrigues et al. (2006) avaliando o efeito de extrato eucalipto sobre *Helminthosporium* sp. observaram que o extrato promoveu atividade antifúngica *in vitro*, e *in vivo*, quando aplicado preventivamente nas fibras da bananeira em concentrações a partir de 5 % deste extrato promoveu-se controle total deste fitopatógeno.

O extrato de eucalipto é agente potencial para o controle da antracnose em pepino, tanto pela sua atividade antifúngica direta quanto pela capacidade de indução local de resistência. O conhecimento da atividade antimicrobiana dos compostos secundários presentes no eucalipto pode contribuir para a utilização de novas técnicas de controle de doenças de plantas e no controle de fitopatógenos do solo ou na parte aérea de plantas, assim como outras plantas medicinais (BONALDO et al., 2004).

Bonaldo et al. (2007) avaliando o efeito fungitóxico de extrato e de óleo essencial de *E. citriodora* na proteção de plantas verificaram que este extrato teve efeito direto sobre os fitopatógenos *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Colletotrichum sublineolum* Henn. e *Phytophthora*

sp., *Rhizoctonia solani* Kühn e *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., em função do efeito no crescimento micelial, na germinação de esporos, por atividade fungitóxica ou pela ativação de mecanismos de defesa como fitoalexinas em sorgo.

Trabalhos com o óleo essencial de eucalipto têm mostrado eficientes na inibição de fungos fitopatogênicos. Dias-Arieira et al. (2010) avaliando a ação de óleo de eucalipto observaram inibição completa sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. E pesquisa realizada por Lee et al. (2007) utilizando óleo de eucalipto inibiu o crescimento micelial de *B. cinerea*, *R. solani*, *Fusarium oxysporum* e *Phytium ultimum* Trow. Fiori et al. (2000) trabalhando com óleos essenciais, entre eles o *E. citriodora* verificaram a inibição do crescimento micelial de *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm em 100 % em todas as alíquotas testadas.

2.3.2 Controle Biológico

O controle biológico de enfermidades de plantas vem sendo empregado pelo homem, enquanto agricultor, desde a antiguidade até os dias atuais (BASHAN, 1998). Entretanto, o uso de microrganismos para o biocontrole de enfermidades de plantas parece ter tido início há algumas décadas apenas, sendo usados em grupos de pesquisa trabalhando na busca de seleção e com teste de organismos procariotos de modo a selecionar os mais promissores para promoção de crescimento e/ou biocontrole de enfermidades (BARRA et al., 2008).

Os microrganismos endofíticos, principalmente fungos e bactérias, habitam o interior das plantas sem causar aparentemente danos nos hospedeiros. A capacidade destes microrganismos de biocontrole, pode ser de natureza direta ou indireta (RYU et al., 2004; ONGENA et al., 2007; LEELASUPHAKUL et al., 2008) podendo advir de vários mecanismos como a produção de substâncias deletérias aos fitopatógenos (M'PIGA et al., 1997), ou mecanismos de antibiose, como síntese de substâncias antimicrobianas, competindo por espaço e nutrientes e síntese de compostos voláteis (LEELASUPHAKUL et al., 2008). Indiretamente, pela produção de substâncias promotoras de crescimento (VAMA et al., 1999; HAMMAMI et al., 2009), ou induzindo resistência sistêmica no hospedeiro (VAN LOON et al., 1998; LANNA FILHO et al., 2010).

O controle biológico por microrganismos é uma alternativa para a redução ou eliminação do uso de agroquímicos no controle de fitopatógenos, sendo que a diversidade de microrganismos bem como suas relações antagônicas surge como ferramenta importante para o controle biológico aplicado (LANNA FILHO et al., 2010).

Linhagens de bactérias endofíticas, pertencentes a diferentes filos do domínio Bactéria, apresentam atividade antagonista contra inúmeros organismos fitopatogênicos e, por isso representam importante e inexplorada fonte de agentes para biocontrole e manejo integrado de doenças e pragas agrícolas (BERG et al., 2005; CAZORLA et al., 2007; LIU et al., 2007; ASSUMPÇÃO et al., 2009).

Muitos trabalhos vêm sendo realizados para elucidar as interações entre antagonista-patógeno-hospedeiro, principalmente para bactérias (ROMEIRO et al., 2005; HALFELD-VIEIRA et al., 2006), objetivando estreitar o entendimento entre ecologia e os mecanismo de ação que permitem esta interação.

Os Microrganismos que agem por antibiose, geralmente têm amplo espectro de ação, de forma que na inibição de fungos a produção de substâncias tóxicas é mais efetiva do que qualquer outro mecanismo de ação envolvido (KÜPPER et al., 2003).

O gênero *Bacillus* pertence ao domínio Bactéria, Classe Bacilli, Família Bacillaceae, gram positiva (MADIGAN et al., 2004), bactérias deste gênero apresenta grande potencial no biocontrole, pois possui características que propiciam seu uso na indústria, tais como: produção de enzimas amilolíticas, enzimas proteolíticas, antibióticos, muitos desses com atividade antifúngica. Pode ser alcançado através de práticas que favoreçam os antagonistas nativos ou através da introdução de microrganismos selecionados pelas suas propriedades antagonísticas (PETRAS; CASIDA, 1985).

Entre as espécies deste gênero estão: *B. subtilis* (Cohn), *B. cereus* (Frankland & Frankland), *B. thurigiensi* (Berliner), *B. sphaericus* (Neide), *B. megaterium* (Bary), *B. pumilis* (Meyer e Gottheil), *B. brevis* (William A. Clark) (MELO, 1998).

As rizobactérias favorecem o crescimento das plantas, tem o potencial de supressão de fitopatógenos por meio de diferentes processos, os quais podem envolver antibiose por produtos do metabolismo secundário (antibióticos) com ação antifúngica (MELO; VALARINI, 1995; BETTIOL et al., 1997; BATISTA JÚNIOR et al., 2002; KUPPER et al., 2003;) e a ativação de mecanismos de defesa da própria planta (CATTELAN; HARTEL, 2000).

Inúmeras pesquisas têm mostrado a versatilidade do uso de bactérias no controle de doenças de plantas, comprovando a capacidade destes microrganismos na inibição *in vitro* e *in vivo* de fungos fitopatogênicos. De acordo com Nielsen; Sorensen (1997) cerca de 40 % das espécies de *Bacillus* isolados do solo apresentam algum tipo de antagonismo contra fungos fitopatogênicos.

Pesquisa realizada por Kupper et al. (2003) utilizando isolados de *Bacillus* spp. tanto em condições de laboratório como em condições de campo observaram inibição do crescimento de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos (*Citrus* spp.). Em batata-doce (*Beta vulgaris* L.) e tomate a aplicação de *Bacillus subtilis* reduziu a incidência de *R. solani*, *Pytium* sp., além de estimularam a germinação, o crescimento e a produtividade das plantas (BALDOTTO et al., 2010).

O isolado CNPMS-22 (*Bacillus subtilis*) impediu o crescimento dos fungos fitopatogênicos testados, com uma atividade avaliada em 100 % de inibição sobre *Fusarium moniliforme* (J. Sheld.), *Exserohilum turcicum* (Pass.) K.J. Leonard & Suggs, *Acremonium stricticum* W. Gams e *Colletotrichum sublineolum* Henn., fungos causadores de doenças no milho e no sorgo através do cultivo pareado em placa de Petri contendo Luria Broth – LB e BDA, com inoculação conjunta e a implantação de discos de cultura fúngica sobre culturas do antagonista (FIGUEIREDO et al., 2010).

A bactéria endofítica *Bacillus cereus* foi capacidade de colonizar o sistema radicular de tomateiro (SILVA et al., 2003), induzir resistência e de ser agente de controle biológico de enfermidades tanto em casa de vegetação (SILVA et al., 2004) como em campo (SILVA; ROMEIRO, 2004). Em pesquisa realizada por Ferraz et al. (2008) utilizando *B. cereus*, foi constatada a eficiência no biocontrole da mancha-alvo do tomateiro em plantas oriundas de sementes microbiolizadas sendo estas artificialmente inoculadas com *C. cassicola*.

As pesquisas com biocontrole de microrganismos são recentes. A primeira bactéria, *Agrobacterium radiobacter* isolado K84, foi registrada na U. S. *Environmental Protection Agency* (USEPA) para o controle da galha-da-coroa em 1979. Atualmente, 14 bactérias e 12 fungos são registrados na USEPA para o controle de doenças de plantas. A maioria destes microrganismos são atualmente comercializados em bioprodutos (LANNA FILHO et al., 2010).

O uso de *Bacillus* como agente de biocontrole tem se mostrado eficaz, tanto pela capacidade de ocupar nichos distintos como por apresentar notória versatilidade fisiológica, características estas promissoras. Com o avanço das pesquisas esses agentes biocontroladosres poderão favorecer a formulação de bioprodutos eficientes no controle de doenças de plantas, e obter formulados estáveis com maior viabilidade.

2.3.3 Indução de Resistência

A indução de resistência em plantas é dinâmica, baseada na produção de barreiras físicas e/ou estimuladas pela aplicação de uma substância indutora sendo uma proposta promissora no controle de várias doenças, pode ser efetiva contra uma gama de patógenos, (BONALDO et al., 2005), até mesmo de insetos herbívoros (KESSLER; BALDWIN, 2002). É considerado como método alternativo, quando manejado juntamente com outros, pode evitar ou atrasar a entrada ou atividade do patógeno nos tecidos das plantas (CAVALCANTI et al., 2006; RESENDE et al., 2007).

A resistência pode ser de caráter específico atingindo determinadas raças de patógenos ou de caráter não específico quando atinge várias doenças ao mesmo tempo sendo chamado de resistência sistêmica (PASCHOLATI et al., 1995). Trata-se de uma interação extremamente específica, regulada entre os genes de avirulência do patógeno e gene guarda da planta, ativando os sinais responsáveis pela transcrição de proteínas envolvidas na resistência (DANGL; JONES, 2001).

As substâncias capazes de ativar as defesas da planta são chamadas de elicitores, atuam como indutores ou ativadores de resistência (STICHER et al., 1997), a ativação ocorre a partir da elicitação por compostos bióticos presentes em extratos de plantas (STANGARLIN et al., 1999), exopolissacarídeos bacterianos (CASTRO; BACH, 2004), rizobactérias promotoras de crescimento (VISWANATHAN; SAMIYAPPAN, 2002), fungos promotores de crescimento (MADI; KATAN, 1998), e ainda raças não virulentas do patógeno (MONOT et al., 2002), além do próprio patógeno inativado pelo calor. Pode ainda ser ativado por elicitores abióticos ou físicos, como silício (Si) (CHÉRIF et al., 1994), ácido salicílico (AS) (CIPOLLINI, 2002), ácido D-L-aminobutírico (BABA) (ZIMMERLI et al., 2000), entre outros, podendo ser usados na exploração de mecanismos de defesa por agirem diretamente como moléculas sinais ou induzirem a ativação de genes que codificam a síntese de fatores de resistência (MÉTRAUX, 2001).

Biomassa Cítrica (Ecolife®)

O Ecolife® é um produto comercial originado de biomassa cítrica, ou segundo o fabricante, uma formulação aquosa heterogênea contendo polifenóis, flavonóides, fitoalexinas e ácidos orgânicos diluídos, que tem se mostrado eficaz na proteção contra doenças nas culturas do pepino (*Cucumis sativus* L.), cafeeiro (*Coffea arabica* L.) e cacauieiro (*Theobroma*

cacao L.) (CAVALCANTI et al., 2006). Em manga (*Mangifera indica* L.), mostrou-se eficiente contra *Lasiodiplodia theobromae* Pat. reduzindo a severidade da doença (DANTAS et al., 2004).

Esse produto contém substâncias antioxidantes que promovem alterações no metabolismo das plantas auxiliando a prevenção de doenças, regulando o crescimento vegetal, processos reprodutivos e a melhora de produtos pós-colheita (MOTOYAMA et al., 2003). Para Bernardo et al. (2001), o produto Ecolife® apresenta mecanismos de ação multiforme, dentre os quais, a indução de resistência via o aumento da síntese de fitoalexinas, parece ser um dos mais importantes.

Experimento com Ecolife® têm demonstrado potencial para o controle de doenças de plantas. Furtado et al. (2010) utilizando Ecolife® no controle da antracnose da banana em pós-colheita observaram que a concentração de 5 m L/L do produto mostrou-se eficaz na redução da doença apresentando menores tamanho das lesões, constatou-se que com o decorrer do processo de maturação dos frutos houve um decréscimo na severidade da antracnose.

Trabalho realizado por Abreu et al. (2008) utilizando produtos sanificantes, entre eles o Ecolife®, no controle pós-colheita da podridão parda e da podridão mole em pêsegos, observaram inibição de 100 % sobre o crescimento radial *in vitro* de *Monilinia fructicola* utilizando concentração de 1000 $\mu\text{L L}^{-1}$. Contudo, o mesmo não promovendo o efeito sobre o crescimento micelial de *Rhizopus stolonifer*.

Em pesquisa realizada por Boava (2008) em plantas tratadas com indutores de resistência bióticos e abióticos, o produto Ecolife® se mostrou eficiente no controle de *Puccinia psidii* (Winter) na severidade da ferrugem do eucalipto, resultados semelhantes também foram obtidos por Costa et al. (2007), reduzindo a severidade da ferrugem do cafeeiro em até 73 %, em comparação com a testemunha. No entanto, não se pode inferir que somente a indução de resistência tenha ocorrido, visto que o Ecolife® pode estar atuando diretamente sobre o patógeno apresentando um efeito antimicrobiano, em vista de outros autores terem detectado atividade antimicrobiana do produto.

Segundo Cavalcanti et al. (2006) o Ecolife® é um efetivo indutor de respostas de resistência em tomateiro na proteção contra a mancha bacteriana, causada por *Xanthomonas vesicatoria* (Doidge), e a redução da severidade da doença está associada ao aumento da atividade de enzimas relacionadas à defesa e a deposição de lignina em tecidos foliares.

Segundo Bonaldo et al. (2005) quando as plantas são expostas a indutores bióticos ou abióticos e ficam protegidas contra patógenos, não implica necessariamente que a indução

tenha ocorrido, visto que o agente de controle pode estar induzindo resistência ou atuando diretamente sobre o patógeno, ou ambos ao mesmo tempo o que descaracterizaria o efeito da indução da resistência.

Bastos (2004) avaliando efeito de Ecolife® no controle da vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa* (Stahel) Aime & Phillips-Mora) apresentou ação fungicida sobre a germinação de basidiósporos e sobre o crescimento micelial promovendo 100 % de inibição na germinação e no crescimento, e a aplicação em mudas de cacau (*Theobroma cacao* L.) induziu uma redução na percentagem de plântulas infectadas de 38,4 a 92,3 % comparando-as com a testemunha.

Fermentado Bacteriano (Stubble-Aid®)

O produto é resultado da fermentação de microrganismos e tem como objetivo criar condições de competições por espaço entre microrganismos benéficos e patogênicos, e tem-se mostrado muito eficiente em diferentes formas de uso (JI et al., 2004). Os mesmos autores verificaram que a aplicação de Stubble-Aid®, juntamente com produtos da empresa Improcop (ISR 2000 e Agromós), protegeram de forma significativa as plantas de tomate da cultivar Solar Set contra murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum*.

Pesquisa realizada por Momol et al. (2005) utilizando ASM, cultivares resistente a murcha bacteriana e o produto Stubble-Aid®, no pré-plantio do tomate no tratamento do solo, visando a redução e até mesmo a eliminação da população de *R. solanacearum*, verificaram a diminuição da população do patógeno no solo em níveis indetectáveis e reduziu significativamente a doença em cultivares suscetíveis de tomateiro quando o solo foi tratado com Stubble-Aid®.

Costa (2007) avaliando o efeito dos produtos ASM, biomassa cítrica e fermentado bacteriano (Stubble-Aid®) em induzir resistência no tomateiro contra *R. solanacearum*, biovars I e III, observou ação bacteriana *in vitro* do Stubble-Aid contra o fitopatógeno, essa ação foi diferenciada em função das doses e dos biovars utilizados. Em ensaios *in vivo*, o mesmo produto mostrou-se efetivo no controle da doença.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do Experimento

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia, localizado no Núcleo de Biotecnologia Agrônomo e na Área Experimental da Fazenda Escola de São Luís (FESL) da Universidade Estadual do Maranhão - UEMA.

Segundo a classificação de Köppen, o clima da Ilha de São Luís é tropical do tipo AW, com verões quentes e úmidos. A média da temperatura mínima é de 29 °C e a média da temperatura máxima de 31 °C. A pluviosidade média é cerca de 2000 mm/ano e ocorrem duas estações (seca e chuvosa) bem definidas, sendo que mais de 80% das chuvas concentram-se no verão.

3.2 Caracterização da Doença e de *C. cassicola* em Mamoeiros.

O experimento foi realizado na Fazenda Escola de São Luís/UEMA. As variedades e seleções utilizadas para a produção de mudas foram: Sunrise Solo 72/12, Sunrise Solo 783, Sunrise Solo BS, Baixinho de Santa Amália, Golden, Golden Verde Escuro, Canaã Golden, Canaã Sunrise Solo, Gran Golden, Grampola e “Cinturão Verde”, seleção local obtida de um pomar da variedade “Sunrise Solo” em área de produção em São Luís, utilizada como testemunha.

Para o substrato foi utilizada uma mistura de terra preta e esterco, previamente esterilizada, na proporção de 3:1. Foram utilizados como recipientes sacos de polietileno. Aos 60 dias após a sementeira, as plantas foram transplantadas ao campo.

O experimento foi instalado no esquema de blocos casualizados, com quatro repetições, onze tratamentos (variedades e seleções), sendo seis plantas por parcela. Para tomada dos dados e observações, consideraram-se duas plantas úteis (centrais) da parcela. Cada parcela obteve área total de 48 m² e área útil de 16 m². Os parâmetros avaliados em campo, sob condições de infecção natural, foram: a) número de folhas/planta; b) números de folhas com lesões; e, c) número de lesões/folha, ambos em nível de campo e, por último, para a análise da doença, retirou-se duas folhas do terço mediano por planta para cada variedade e/ou seleção, para a contagem do número de lesões foliares, em seguida, foram levadas para o Laboratório de Fitopatologia, para registro fotográfico, e isolamento, a partir do fragmento das partes intermediárias das lesões e confirmação do agente causal da doença.

Para a confirmação da patogenicidade, as mudas foram obtidas pelo plantio de sementes de mamão da variedade Sunrise Havaí, em vasos de 2 Kg, contendo terra preta e esterco, previamente esterilizados, na proporção 3:1, respectivamente, e mantidas em casa de vegetação.

No preparo do inóculo, o isolado obtido foi transferido para placas de Petri contendo meio de cultura BDA, mantidas em condições de laboratório e incubadas por sete dias. Após esse período, adicionou-se 20 mL de água destilada em cada placa, e utilizando lâmina de vidro efetuou-se a raspagem das colônias para liberação dos conídios. Em seguida, com o auxílio de câmara de Neubauer a suspensão foi ajustada para 1×10^4 conídios . mL⁻¹. A inoculação nas mudas foi feita aos 60 dias, pelo método de pulverização, mantidas em câmara úmida por 48 horas. A avaliação da doença foi realizada 30 dias após a inoculação através da incidência de sintomas.

Para a caracterização do isolado de *C. cassicola*, foi efetuado o reisolamento dos fragmentos da parte intermediária das lesões e submetidas à assepsia com álcool 50 %, solução desinfestante (solução aquosa de hipoclorito na proporção 3:1) e água destilada, para retirar o excesso da solução desinfestante. Os fragmentos foram colocados em placas de Petri contendo meio BDA (batata-dextrose-ágar) em quatro pontos equidistantes e mantidas em temperatura ambiente 25 ± 2 °C para o crescimento do fungo. A identificação do isolado foi feita de acordo com aspectos morfológicos e com auxílio de microculturas (MENEZES; ASSIS, 2004). Foi realizada medição da largura, comprimento e número de septos de 100 conídios observados em microscópio ótico e medidos com o auxílio de ocular micrométrica, calibrada com micrômetro, ajustada com valor de correção da ocular. Em seguida foi feito o registro fotográfico das estruturas do fitopatógeno com o auxílio de câmara digital (Leica LAS EZ) acoplada no microscópio ótico.

3.3 Obtenção dos Isolados de *Bacillus* spp., Extratos Vegetais, Óleo de Nim e Produtos Abióticos

Foram utilizados nove isolados de *Bacillus* spp. adquiridos da Micoteca do Laboratório de Fitopatologia da UEMA (Tabela 1).

Tabela 1. Isolados de *Bacillus* obtidos na Micoteca do Laboratório de Fitopatologia da UEMA.

| ISOLADOS | IDENTIFICAÇÃO* | Procedência |
|----------|--------------------------------|-------------------|
| ISO 12 | <i>Bacillus</i> spp. | Arari |
| ISO 22 | <i>Bacillus polymyxa</i> | Arari |
| ISO 22' | <i>Bacillus penthotenticus</i> | Arari |
| ISO 31 | <i>Bacillus cereus</i> | Vitória do Mearim |
| ISO 35 | <i>Bacillus pumilus.</i> | Pindaré |
| ISO 40 | <i>Bacillus</i> spp. | Grajaú |
| ISO 41 | <i>Bacillus cereus</i> | Grajaú |
| ISO 45 | <i>Bacillus cereus</i> | Grajaú |
| ISO 47 | <i>Bacillus cereus</i> | Davinópolis |

*identificação realizada por Nascimento, 2009 através de testes bioquímicos (Voges-Proskauer, Citrato, Nitrato, Uréia, Amido e Glucose).

Os extratos vegetais de nim, citronela e eucalipto foram adquiridos na Fazenda Escola do Campus da UEMA, e o óleo de nim e os produtos abióticos Ecolife® e Strubble-Aid® foram obtidos comercialmente.

Foram preparados extratos aquosos (EA) de nim, citronela e eucalipto a 10 %, pesando-se 5 g de material vegetal (folhas frescas e saudáveis) e triturando-os em 50 mL de água destilada e esterilizada em liquidificador por 10 minutos, em seguida o material foi filtrado em gase dupla, papel filtro e membrana filtrante com porosidade de 0,22 µm, acoplado em seringa (SILVA, 2007). Todos os extratos foram adicionados em meio BDA, nas diferentes concentrações, em seguida, autoclavados por 20 minutos a 120 °C e 1 atm para os testes de inibição do crescimento micelial do fungo *C. cassiicola*.

3.4 Efeito de Extratos Vegetais e Óleo de Nim sobre *C. cassiicola*

Os extratos vegetais de nim, citronela, eucalipto e óleo de nim foram adicionados ao meio BDA, a fim de obter as concentrações de 10, 15 e 20 % para extratos vegetais, e de 0; 1,25; 2,5; 3,75 e 5 %, para óleo de nim. Após a autoclavagem, foi adicionado o antibiótico, e posteriormente, foi vertido em placas de Petri, previamente autoclavadas. A partir de colônias com 10 dias de idades, crescida em meio BDA, foram obtidos discos de micélio de 6,0 mm de diâmetro contendo o fungo *C. cassiicola*. Estes discos foram transferidos para o centro de cada uma das placas, posteriormente, vedadas com filme plástico e mantidas em temperatura

ambiente (25 ± 2 °C). Cada concentração representou um tratamento. Placas contendo meio BDA com o fitopatógeno, sem adição de extratos vegetais e óleo de nim serviram de testemunha.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada no décimo dia pela medição do crescimento radial da colônia em dois eixos ortogonais, com o auxílio de uma régua milimetrada, sendo posteriormente calculada a média. As medidas foram calculadas pela percentagem de inibição do crescimento micelial (P.I.C.), segundo Edginton et al. (1971), que é expressa:

$$P. I. C = \frac{\text{cresc. test.} - \text{cresc. trat.}}{\text{cresc. test.}} \times 100, \text{ sendo:}$$

cresc. test. = crescimento micelial da testemunha;

cresc. trat. = crescimento micelial do tratamento.

No experimento com extratos vegetais o delineamento utilizado foi inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 3x4 (tratamentos x concentração) com quatro repetições. Para o ensaio com óleo de nim utilizou-se delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e quatro repetições. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. Os resultados obtidos de percentagem de inibição do crescimento micelial (P.I.C.) em cada tratamento foram submetidos à análise de regressão, tendo concentrações de extratos vegetais e óleo de nim como variável independente e P.I.C. como variável dependente.

3.5 Efeito Fungistático de *Bacillus* spp. sobre *C. cassiicola*

Para avaliação da potencialidade antagonista de *Bacillus* spp. (Tabela 1), foi utilizado o pareamento de colônias do patógeno e do controlador biológico, pelo método do círculo. Esse método consistiu na transferência assepticamente de um disco de 6,0 mm de diâmetro de ágar contendo estruturas do fitopatógeno, acondicionados no centro da placas de Petri contendo meio de cultura BDA. Com o auxílio de uma alça de platina inoculou-se os isolados bacterianos nos bordos do meio de cultura formando um círculo, aproximadamente de 5,0 cm e, posteriormente, vedadas com filme plástico e mantidas em temperatura ambiente (25 ± 2 °C). A testemunha constou apenas do fitopatógeno cultivado em meio de cultura (MARIANO, 1993).

A avaliação foi efetuada no 5º, 7º, 10º e 12º dia, pela inibição do crescimento micelial, medindo-se o diâmetro das colônias, em dois sentidos diametralmente opostos, com auxílio de uma régua milimetrada, definindo-se uma média para cada colônia.

O delineamento estatístico adotado foi o inteiramente casualizado, com nove isolados do antagonista, quatro repetições, sendo que cada placa representou uma unidade experimental. A testemunha constou somente do patógeno cultivado em meio BDA. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

3.6 Efeito de Produtos Abióticos na Inibição do Crescimento Micelial de *C. cassicola*

Os produtos abióticos utilizados foram Ecolife® e Stubble-Aid® adicionados ao meio BDA, na presença de antibiótico, a fim de obter as concentrações de 0,25; 0,5; 0,75 e 1 %, posteriormente, o meio foi vertido em placas de Petri, previamente autoclavadas. Após solidificação, um disco de 6,0 mm de diâmetro do micélio de *C. cassicola*, com 10 dias de idade, foi repicado para o centro de cada placa de Petri vedadas com filme plástico e mantidas em temperatura ambiente (25 ± 2 °C). Cada concentração representou um tratamento. Placas contendo meio BDA com o fitopatógeno sem adição dos produtos serviram de testemunha.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada no 10º dia pela medição do crescimento radial da colônia em dois eixos ortogonais, sendo posteriormente calculada a média. As medidas foram calculadas pela percentagem de inibição do crescimento micelial (P.I.C.). O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x4 (tratamento x concentração) com quatro repetições. As médias foram comparadas pelo Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. Os resultados obtidos de percentagem de inibição do crescimento micelial (P.C.I.) em cada tratamento foram submetidos à análise de regressão, tendo os produtos Ecolife® e Stubble-Aid® como variável independente e P.C.I. como variável dependente.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização da Doença e de *C. cassiicola* em Mamoeiros.

Os resultados referentes à caracterização da doença foram obtidos pela visualização dos sintomas em mamoeiros, no experimento em campo (Tabela 2).

Tabela 2. Avaliação da Mancha-alvo em Variedades/Seleções de Mamoeiro com 2-3 meses de idade na Fazenda Escola da UEMA.

| Variedades | Número de folhas/planta | Número de folhas doentes/planta | Folhas doentes (%) | Número de lesões/folha |
|-----------------------------|-------------------------|---------------------------------|--------------------|------------------------|
| Grampola | 12,12 ¹ a | 11,00 a | 90,75 | 20,95 b |
| Sunrise Solo 783 | 12,00 a | 11,37 a | 94,75 | 25,00 b |
| Canaã Sunrise Solo | 11,87 a | 11,00 a | 92,67 | 98,75 a |
| Sunrise Solo BS | 11,75 a | 11,37 a | 96,76 | 32,75 b |
| Gran Golden | 11,37 ab | 10,50 ab | 92,35 | 28,50 b |
| Baixinho de Santa Amália | 10,87 ab | 10,12 ab | 93,10 | 29,37 b |
| Golden | 10,62 ab | 10,62 ab | 100,00 | 17,87 b |
| Sunrise Solo 72/12 | 10,62 ab | 9,75 ab | 91,80 | 22,50 b |
| Canaã Golden | 10,50 ab | 9,87 ab | 92,85 | 77,12 a |
| Golden Verde Escuro | 8,87 b | 8,12 b | 91,54 | 19,75 b |
| Cinturão Verde (Testemunha) | 10,87 ab | 9,75 ab | 89,69 | 23,91 b |
| CV (%) | 9,26 | 11,31 | | 33,01 |
| DMS | 2,52 | 2,87 | | 37,50 |

¹Médias seguidas das mesmas letras (na coluna), não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade.

Na avaliação das plantas doentes (Tabela 2), o número de folhas/planta e o número de folhas doentes/planta foram bastante similares em todas as variedades/seleções, indicando que a incidência foi generalizada, sendo favorecida pelo clima quente e úmido.

A seleção Golden Verde Escuro apresentou para as duas características estudadas médias de 8,87 e 8,12, diferindo significativamente das seleções Grampola, Sunrise Solo783, Canaã Sunrise Solo e Sunrise Solo BS.

Para o número de lesões/folha as seleções Canaã Sunrise Solo e Canaã Golden obtiveram uma maior quantidade de lesões, da ordem de 98,75 e 77,12, respectivamente, diferindo das demais.

Dentro da espécie *C. cassiicola*, isolados de diferentes hospedeiros podem se diferenciar quanto à patogenicidade, sendo que alguns podem ter maior ou menor gama de hospedeiros (OLIVEIRA et al., 2007). Comprovando a variabilidade entre isolados de *C. cassiicola*, agente causal da mancha-alvo, que responde diferentemente entre hospedeiros (SILVA et al., 1998; SIVEIRO; ASSIS, 1993). Este fato pode explicar as reações apresentadas pelas diferentes variedades e/ou seleções de mamoeiro hospedeiro do fungo (COOK, 1975), além da variabilidade genética entre cultivares.

Apesar da variedade Golden apresentar todas as folhas com lesões (10,62), foi verificado menor número de lesões por folha, quando comparadas com as demais variedades e seleções, correspondendo a 17,87 lesões/folha. Dianese et al. (2007) avaliando a reação de genótipos de mamoeiro à varíola observaram que a severidade em folhas para a seleção Golden variou de 7 a 14 %, já em relação à podridão-do-pé a mesma seleção apresentou de 51 a 100 % de murcha e 76,87 % de plantas afetadas em campo.

Pode-se sugerir que esta seleção embora apresente totalidade de folhas doentes, possui características genéticas correlacionadas com a resistência ao fungo *C. cassiicola*. Em relação à infecção foliar características morfológicas como estômatos pequenos e poucos números, um parênquima paliçádico compacto, epiderme e cutícula espessas e a presença de tricomas na superfície abaxial também foram correlacionados positivamente com a resistência (MAYEE; SURYAWANSHI, 1995).

Outro fator que pode contribuir é a capacidade dos cultivares de responder à infecção através do reconhecimento do patógeno e assim induzir, por exemplo, a produção de enzimas de defesa como a β -1-3 glucanase, a peroxidase e quitinase (DANGL; JONES, 2001).

Observou-se pequenas lesões foliares, em torno de 2-3 mm, circulares, brancas e circuladas por um halo amarelo (Figura 2A), com a evolução da doença nas folhas mais velhas, as lesões atingiram até 6,0 mm, com formato irregular, tonalidade marrom, tornando-se necrosadas, exibindo amarelecimento (Figura 2B), causando desfolha prematura, e em algumas casos a morte de plantas, características similares foram descritas por Ventura et al. (2006). Em aceroleira, os sintomas da doença são semelhantes aos observados nesta pesquisa (POLTRONIERI et al., 2003).



Figura 3. Lesões características de *C. cassiicola* em folhas de mamoeiro: Sintomas iniciais (A) e lesões generalizadas em folhas mais velhas, exibindo forte amarelecimento (B).

O fungo *C. cassiicola* em meio BDA apresentou micélio branco e flocoento, e posteriormente mudou para a cor cinza escuro, tornando-se um emaranhado preto oliváceo, características estas também foram observadas por Snow; Berggren (1989) (Figura 4B). Em pesquisa desenvolvida por Almeida et al. (2004) sobre a diferenciação de isolados de *C. cassiicola* demonstraram que o fungo se desenvolve vagarosamente em meio de cultura BDA, formando um micélio de tonalidade escura e de coloração cinza-esverdeada.

Os conídios observados em lâminas através do microscópio óptico apresentaram morfologia idêntica a do gênero *Corynespora*, com formatos reto ou ligeiramente curvo (Figura 4B), septados com variação de 3-8 septos e exibindo hilo escuro na extremidade (Figuras 4C).

Na mensuração de 100 conídios oriundo do crescimento micelial de *C. cassiicola* em meio BDA verificou as dimensões de 13,50 – 21,90 μm de largura e 76,76 – 165,26 μm de comprimento, com média de 16,54 x 98,15 μm (Figura 4A).

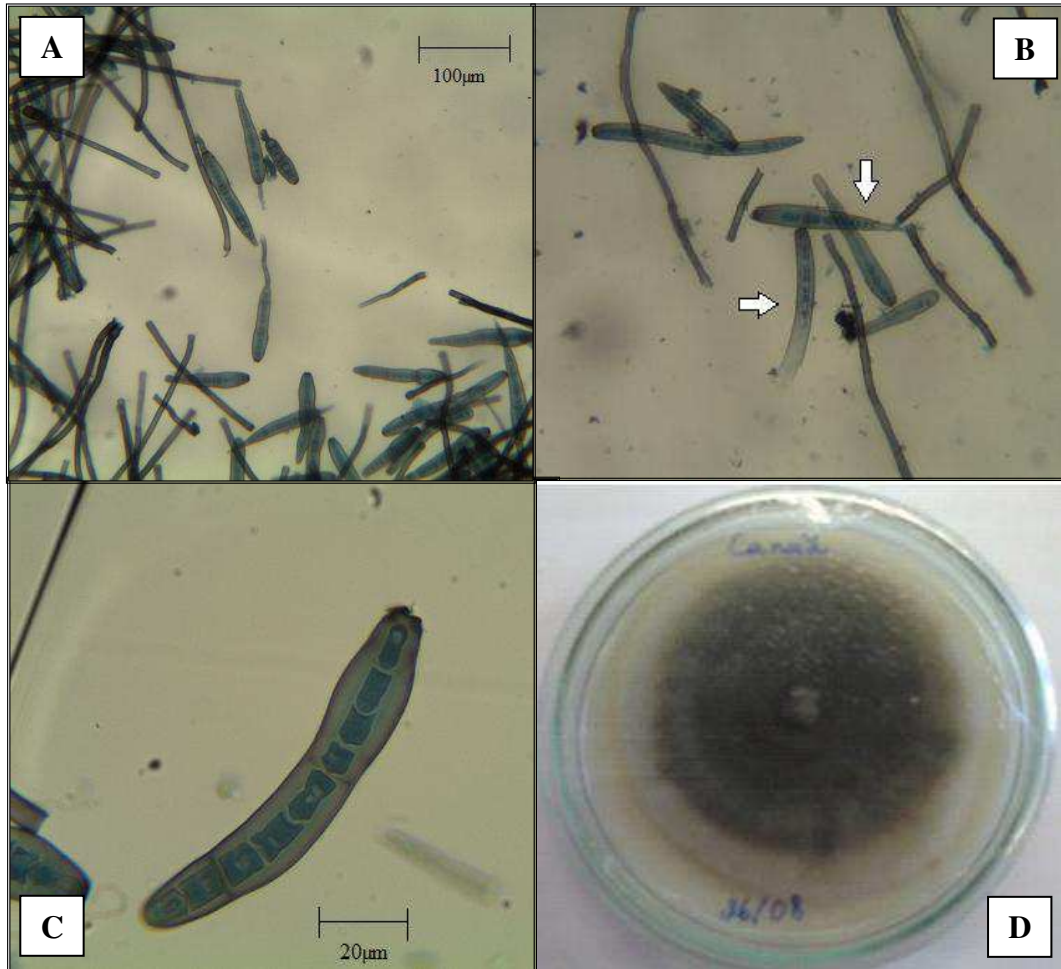


Figura 4. Estruturas do fungo *C. cassiicola*: (A) Conídios de tamanhos variados; (B) Formato reto ou ligeiramente curvo; (C) Septado e exibindo hilo escuro na extremidade; Aspecto da colônia em meio BDA (D). Microscópio ótico com ocular de 10x e objetiva de 10x e 40x.

De acordo com resultados observados em outras pesquisas, avaliando diferentes patossistemas, observaram variações nas dimensões das estruturas do patógeno. Pode-se inferir que os isolados *C. cassiicola* variam morfológicamente entre espécies hospedeiras.

Em aceroleira, os conídios variaram 28,8 – 163,2 x 4,8 - 14,4 µm, (POLTRONIERI et al., 2003). Melo (2009) verificou que os conídios de *C. cassiicola* em soja variaram de 8 -12 x 20-280 µm, obtendo a média de 10 x 150 µm. Resultados semelhantes foram observados por Melo; Reis (2010), na confirmação da patogenicidade e identificação do isolado do fungo *C. cassiicola*, agente causal da mancha-alvo em soja, observaram que os conídios obtidos da esporulação em folhas, mantidas em câmara úmida apresentaram dimensões de 8 -10 x 125 – 210 µm, com uma média de 9 x 167,5 µm, e para os produzidos em meio BDA as dimensões foram 8-10 x 69 – 179 µm.

Variações similares foram obtidas por Snow & Berggren (1989), Ellis (1971) onde os conídios mensurados variaram entre 7-22 x 39-520 µm, com média de 8 x 135 µm.

As plantas inoculadas após período de incubação apresentaram os sintomas da mancha-alvo. Os sintomas se iniciaram por pontuações brancas, com halo amarelado (Figura 5), evoluindo para manchas circulares, de coloração castanha. Esses sintomas coincidem com os descritos por Snow; Berggren (1989) causados pelo fungo *C. cassiicola* em plantas de soja. As plantas testemunhas, pulverizadas apenas com água, não apresentaram sintomas.



Figura 5. Folha de mamoeiro apresentando sintomas iniciais da Mancha-alvo após inoculação com *C. cassiicola*.

4.2 Efeito de Extratos Vegetais e Óleo de Nim sobre *C. cassiicola*.

Os Extratos de Nim, Citronela e Eucalipto afetaram o crescimento micelial do fitopatógeno em estudo, ressaltando-se as diferentes concentrações, em que inibição do fungo foi proporcional ao aumento das concentrações, exceto para extrato de citronela. Na avaliação do efeito inibitório, no geral, observou-se que todos os tratamentos diferiram significativamente da testemunha (Tabela 3).

Tabela 3. Diâmetro médio da colônia e porcentagem de inibição do crescimento micelial de *C. cassicola* exposto a diferentes concentrações de extratos de nim, citronela e eucalipto, após dez dias de incubação a 25±2 °C em meio BDA.

| Tratamentos | Concentração | | | | | | Média |
|----------------------|--------------------------|---------|--------------------------|---------|--------------------------|---------|--------|
| | 10 % | | 15 % | | 20 % | | |
| | Diâmetro da colônia (cm) | PIC (%) | Diâmetro da colônia (cm) | PIC (%) | Diâmetro da colônia (cm) | PIC (%) | |
| Extrato de Nim | 7,66 bA | 14,88 | 7,07 bAB | 21,44 | 6,52 bB | 27,56 | 7,08 b |
| Extrato de Citronela | 5,71 cA | 36,56 | 6,08 cA | 32,44 | 5,95 bA | 34,22 | 5,91 d |
| Extrato de Eucalipto | 6,92 bA | 23,11 | 6,85 bA | 23,89 | 5,86 bB | 34,89 | 6,54 c |
| Testemunha | 9,00 aA | - | 9,00 aA | - | 9,00 aA | - | 9,00 a |
| Média | 7,32 a | | 7,25 a | | 6,83 b | | 7,13 |

Médias seguidas da mesma letra minúscula (colunas) e maiúsculas (linhas) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. CV % 5,61; DMS 0,76 (colunas) e 0,69 (linhas).

No geral, o extrato de citronela mostrou-se mais eficiente na inibição do fungo, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos nas concentrações a 10 e 15 %. Todavia, esse extrato não apresentou diferença estatística entre concentrações.

Estes dados não corroboram com trabalhos realizados por Moreira et al. (2008), em que frações obtidas de extratos metanólicos (EME) e etanólicos (EET) de *C. nardus* não promoveram atividade fungitóxica direta contra *C. lagenarium*. Este resultado pode estar associado ao método de extração, pois os mesmos utilizaram o álcool etílico e metílico como solvente extrator, e nessa pesquisa utilizou-se água destilada e esterilizada.

Resultado controverso foi observado por Baldo (2005), que verificou que extratos de brutos de *Cymbopogon nardus* e *C. citratus* promoveram estímulo na germinação de esporos de *Cladosporium flavum*, embora, neste caso, os extratos apresentassem efeito fungitóxico sobre o crescimento micelial e sobre a esporulação deste fungo fitopatogênico.

O extrato de nim nas concentrações 10, 15 e 20 % apresentaram inibição do crescimento do fitopatógeno de 14,88; 21,44 e 27,56 %, respectivamente, quando comparado com a testemunha. Todavia, na concentração a 20 % o extrato de nim não apresentou diferença significativa dos extratos de eucalipto e de citronela (Tabela 3).

Testes envolvendo o uso de extratos e resíduos de folhas de nim mostraram inibição do crescimento vegetativo de muitos patógenos do gênero *Fusarium* sp., entre eles destaca-se: *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (Fock.), *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae* (Hanzawa.), *Fusarium oxysporum* (Snyder & Hansen), *Fusarium solani* Mart. , além de outros fungos

pertencentes a outros gêneros como *Aspergillus* sp., *Sclerotinia* sp, *Pyricularia* sp, *Rhizoctonia* sp. *Penicillium* sp, relatos vêm confirmando o potencial da atividade antifúngica dessa planta demonstrando sua eficiência no controle de doenças, principalmente as causadas por fungos, mostrando seus efeitos fungitóxicos e fungistáticos além de sua utilização como supressor de fungos fitopatogênicos (MOSSINI; KEMMELMEIER, 2005).

Pesquisa realizada por Ogbebor et al. (2007) utilizando extrato de *A. indica* verificaram redução significativamente do crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, além de promover a redução de 34,62 % na germinação de esporos, após cinco dias de incubação. Extratos metanólicos de nim promoveram inibições na ordem de 20,7 e 24,4 % do crescimento micelial de *C. lindemuthianum* (Sacc. & Magnus) Brioso e Cavara e *C. dematium* (Percs.:Fr) Grove, respectivamente (GOVINDACHARI et al., 1998).

Para os extratos de nim e eucalipto o aumento da inibição do crescimento micelial de *C. cassicola* foi proporcional ao aumento das concentrações, exceto o extrato de citronela, que se apresentou inversamente proporcional ao aumento das concentrações, mostrando-se mais eficiente quando comparado com os demais tratamentos, promovendo 36,56 % de inibição do fitopatógeno na concentração a 10 % (Figura 6).

Este resultado está de acordo com outros autores que testaram a atividade antifúngica de extratos de eucalipto, como a pesquisa desenvolvida por Marques et al. (2008), na avaliação da atividade antifúngica do extrato de *Eucalyptus* sp. sobre o crescimento de fitopatógenos que verificaram aumento da inibição do crescimento micelial das colônias dos fungos, destacando as concentrações 20 e 30 % que inibiram totalmente o crescimento das colônias de *M. fructicola* e *B. sorokiniana*.

O mesmo foi observado por Bonaldo et al. (2007), quando testaram o efeito de extrato bruto aquoso (EBA) de folhas frescas de *E. citriodora*, em concentrações acima de 20 %, mostraram-se eficientes inibindo 100 % o crescimento micelial de *Colletotrichum sublineolum*, *Phytophthora* sp. e *Sclerotium rolfsii*, em 75 % o de *Rhizoctonia solani*, e em 45 % o de *Alternaria alternata* em ensaios *in vitro*. Rodrigues et al. (2006) avaliando a atividade antifúngica de extratos de eucalipto *in vitro* sobre *Helminthosporium* sp. em concentrações a partir de 5 % mostrou-se eficiente na inibição do fitopatógeno.

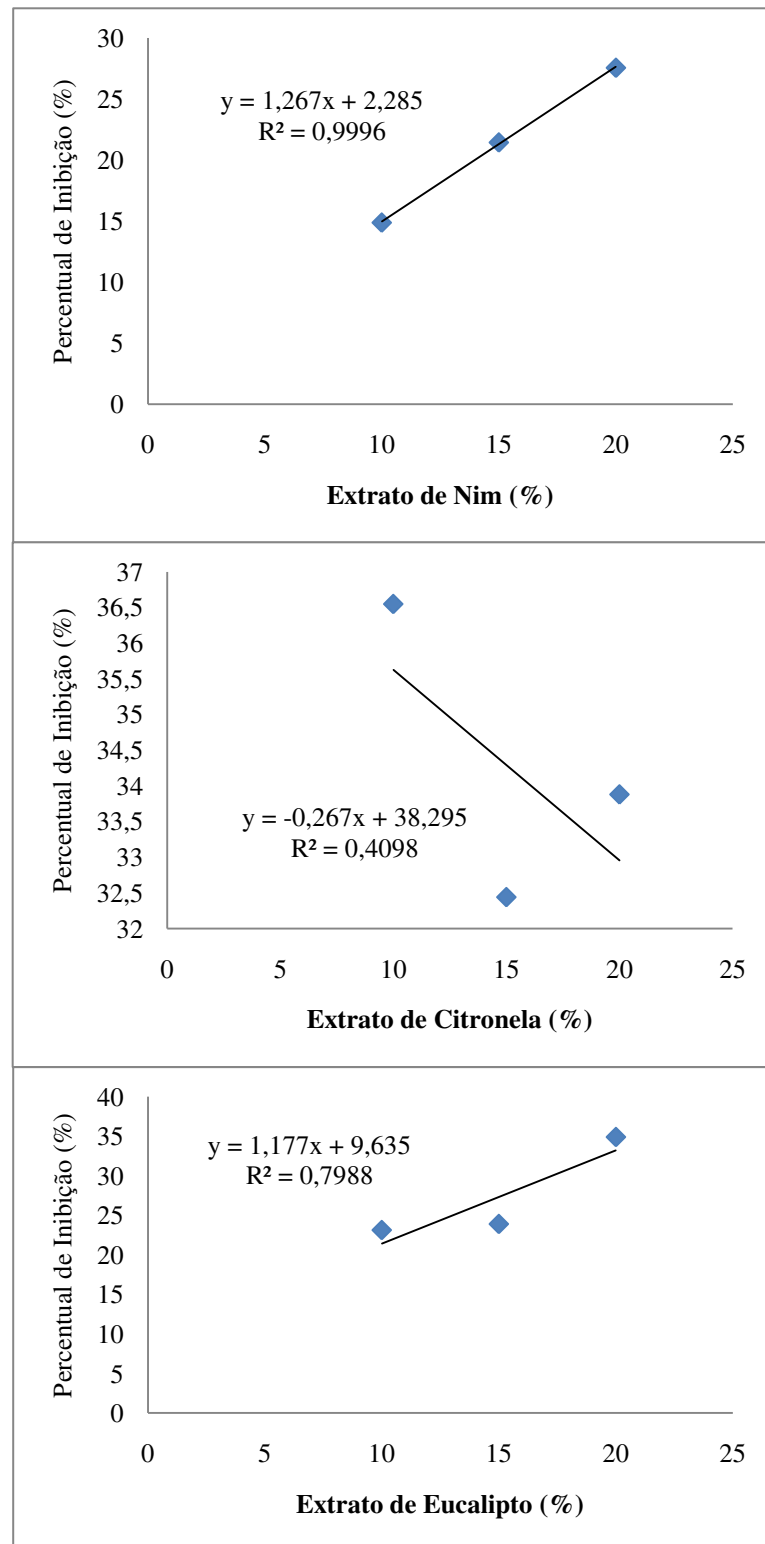


Figura 6. Efeito de extratos de nim, citronela e eucalipto nas concentrações 10; 15 e 20 % na inibição do crescimento micelial de *C. cassiicola* em meio BDA, mantidas por 10 dias de incubação (25 ± 2 °C).

Além dos extratos, o óleo de eucalipto tem se mostrado promissor no controle de fitopatógenos. Dias-Arieira et al. (2010) avaliando a ação de óleo de eucalipto observaram inibição em todas as concentrações testadas, contudo as concentrações de 1 e 1,5 % foram mais eficientes promovendo 91 % de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. Em pesquisa realizada por Lee et al. (2007) utilizando óleo de eucalipto inibiu o crescimento micelial de *B. cinerea*, *R. solani*, *Fusarium oxysporum* e *Phytophthora ultimum* Trow. em 91, 87, 57 e 50 % respectivamente. Fiori et al. (2000) trabalhando com óleos essenciais, entre eles o *E. citriodora* nas alíquotas de 20, 40, 60, 100, 200, 500 e 1000 µL verificaram a inibição do crescimento micelial de *Didymella bryoniae* em 100 %.

O óleo de nim mostrou-se eficiente na inibição crescimento micelial do fitopatógeno, em todas as concentrações, em relação à testemunha, ressaltando que, o aumento das concentrações foi proporcional ao aumento da inibição, apresentando percentual inibitório variando de 61,66 a 69,88, não diferindo entre si estatisticamente (Figura 7).

Além de inibir o crescimento micelial de *C. cassiicola*, o óleo de nim não diferiu significativamente entre concentrações, mostrando-se eficiente economicamente em baixas concentrações.

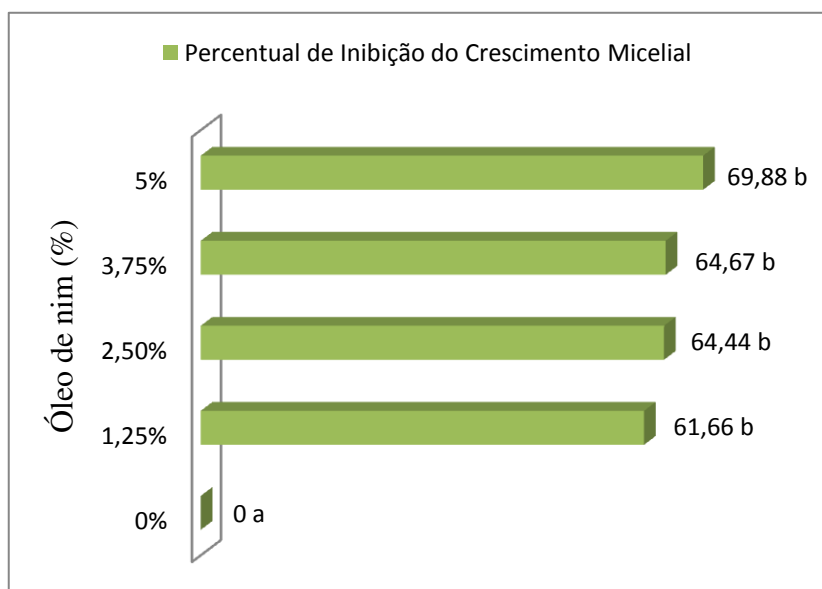


Figura 7. Efeito de Óleo de *Azadirachta indica* (nim) nas concentrações de 0; 1,25; 2,5; 3,25 e 5 %, na inibição de *C. cassiicola* em meio BDA.

A mesma ação inibitória foi encontrada por Miguel et al. (2006) quando verificaram redução significativa do crescimento micelial de *Colletotrichum* spp., isolados de fruto de morangueiro, através da utilização de óleo de nim adicionado em meio BDA nas

concentrações de 0,25, 0,50, 0,75 e 1,0 %. Dias-Arieira et al. (2010) verificaram inibições superiores a 75 % quando *C. acutatum* foi exposto ao óleo de nim, nas concentrações acima de 0,5 %.

Além do óleo de nim apresentar a ação direta sobre a inibição do crescimento micelial de fungos fitopatógenos, outros autores tem confirmado essa ação no controle de doenças. Amadioha; Obi (1998) utilizando óleo de nim em feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) verificaram a redução na ocorrência de lesões causadas por *C. lindemuthianum*, esse efeito foi superior ao fungicida benomyl. No controle de *Pyricularia oryzae* Cav. em arroz, tanto o extrato de nim quanto o óleo promoveram reduções semelhantes ao fungicida carbendazin 0,1 % i.a., comprovando o potencial para o controle da doença no campo (AMADIOHA, 2000).

4.3 Efeito Fungistático de *Bacillus* spp. sobre *C. cassiicola*

De acordo com os resultados todos os isolados de *Bacillus* apresentaram a característica fungistática ao patógeno, reduzindo o potencial antagônico com o decorrer dos dias de avaliação, exceto o Isolado 31 (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito de Isolados de *Bacillus* sobre o Crescimento Micelial *in vitro* de *C. cassiicola* em meio BDA, avaliados no 5º, 7º, 10º e 12º dias de incubação.

| Tratamentos | Diâmetro da colônia (cm) | | | | Média | PIC (%) |
|--------------|--------------------------|-----------|-----------|-----------|---------|---------|
| | 5 dias | 7 dias | 10 dias | 12 dias | | |
| ISO 12 | 3,17 aB | 5,19 Bb | 6,41 abA | 6,95 abcA | 5,19 b | 13,98 |
| ISO 22 | 3,27 aC | 5,11 Bb | 5,66 abcB | 7,50 abA | 5,11 b | 7,17 |
| ISO 22' | 3,06 aB | 4,05 abB | 5,41 bcA | 5,63 cdA | 4,54 bc | 30,32 |
| ISO 31 | 2,37 aA | 2,45 cA | 2,66 eA | 2,93 eA | 2,60 e | 63,36 |
| ISO 35 | 2,60 aC | 3,38 bcBC | 4,25 cdB | 5,57 cdA | 3,95 cd | 31,06 |
| ISO 40 | 3,30 aC | 4,23 abBC | 5,37 bcAB | 6,15 bcA | 4,76 b | 23,88 |
| ISO 41 | 2,67 aB | 3,03 bcAB | 3,72 deAB | 4,17 deA | 3,40 d | 48,39 |
| ISO 45 | 3,15 aB | 4,16 abB | 5,81 abA | 6,85 abcA | 4,99 b | 15,22 |
| ISO 47 | 3,10 aC | 3,96 abC | 5,80 abB | 7,45 abA | 5,07 b | 7,79 |
| Testemunha | 3,82 aC | 5,25 Ab | 7,15 aA | 8,08 aA | 6,07 a | 0 |
| Média | 3,05 d | 3,88 c | 5,22 b | 6,13 a | 4,57 | |

Médias seguidas da mesma letra minúscula (colunas) e maiúsculas (linhas) não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade. ISO 12 e 40 = *Bacillus* spp.; ISO 22 = *B. polymyxa*; ISO 22' = *B. pentothenicus*; ISO 35 = *Bacillus* spp.; ISO 31, 41, 45 e 47 = *B. cereus*. CV% 14,38; DMS 1,49 (colunas) e 1,21 (linhas).

O Isolado 31 (*B. cereus*) manteve médias constantes de inibição, apresentando o crescimento da colônia variando de 2,37 a 2,93 cm, não diferindo significativamente nos períodos avaliados, comportando-se como o isolado mais eficiente na inibição do crescimento micelial de *C. cassiicola*.

Na avaliação do potencial antagônico dos isolados de *Bacillus* no quinto dia não houve diferença significativa entre os tratamentos. No sétimo dia de avaliação, o Iso31 (*B. cereus*) apresentou crescimento do fungo de 2,45 cm, seguido do Iso41 (*B. cereus*) e Iso35 (*B. pumilus*), apresentando 3,03 e 3,38 cm, respectivamente, diferindo dos demais isolados. Nos demais dias, o Iso41 (*B. cereus*) manteve resultados semelhantes, obtendo suas médias de crescimento da colônia iguais estatisticamente, atingindo percentual de inibição de 48,39 % (Tabela 4).

Observa-se, ainda, que o Iso31 (*B. cereus*) e o Iso41 (*B. cereus*) apresentaram percentuais de inibição elevados em relação aos demais tratamentos, 63,36 e 48,39 % na inibição do fitopatógeno, o contrário, ocorreu com o Iso22 (*B. polymyxa*) e Iso47 (*B. cereus*), onde ambos apresentaram potencial de inibição de 7,17 e 7,79 %, respectivamente. Os isolados 12 (*Bacillus* spp), 22 (*B. polymyxa*), 22' (*B. pentothenticus*), 40 (*Bacillus* spp), 45 e 47 (*B. cereus*) não diferiram entre si estatisticamente.

Estes resultados estão de acordo com Ferraz et al. (2008) quando verificaram que a ação biocontroladora de *B. cereus* no controle da mancha-alvo do tomateiro, com redução de 50 % do número médio de lesões/folículos em plantas oriundas de sementes microbiolizadas quando estas foram artificialmente inoculadas com *C. cassiicola*.

A ação de *Bacillus*, através da antibiose, tem se mostrado promissora no controle biológico de vários patógenos, confirmando os resultados encontrados neste trabalho. Como os verificados por Figueiredo et al. (2010) avaliando a atividade antagonista *in vitro* de *B. subtilis* (isolado CNPMS-22) contra fungos causadores de doenças no milho e no sorgo observaram 100 % de inibição do crescimento micelial de *Fusarium moniliforme*, *Exserohilum turcicum*, *Acremonium stricticum* e *C. sublineolum* em todos os ensaios experimentais, através do cultivo pareado em placa de Petri contendo meio de cultura Luria Broth (LB) e BDA. Esta mesma espécie reduziu a incidência de *R. solani*, *Pytium* sp., estimulou a germinação, promoveu o crescimento e a produtividade de batata-doce (*Beta vulgaris* L.) e tomateiro quando pulverizadas com *B. subtilis* (BALDOTTO et al., 2010).

Assim como pesquisa realizadas por Melo; Valarini (1995) testando o potencial de rizobactérias no controle de *Fusarium solani*, constataram que dezoito bactérias isoladas da rizosfera de pepino mostraram antagonismo ao fungo estudado, entre estas, dois eram isolados

de *Bacillus subtilis*, esses resultados indicaram que as rizobactérias isoladas de diferentes culturas não apresentaram especificidade de ação, o que permite a sua utilização para diferentes sistemas planta-patógeno.

O mesmo foi observado por Nascimento (2009) na avaliação de isolados de bactérias na inibição de *P. grisea*, que obteve inibição do crescimento micelial em todos os tratamentos, contudo, os isolados *B. cereus*, *B. polymyxa*, *B. lentus*, *B. pumilus* e *B. polymyxa*, mostraram-se mais eficientes, inibindo 90, 41 %, 76,69 %, 75,96 %, 73,15 %, 69,76 %, 67,55 %, respectivamente, o fitopatógeno em estudo. Angonese et al. (2009) testando o efeito fungistático de isolados de *Bacillus* spp. sobre fungos fitopatogênicos observaram que foram capazes de antagonizar *Alternaria* spp., *Botrytis* spp., *Fusarium oxysporum* e *Colletotrichum* spp., inibindo o crescimento micelial dos fungos, mostrando o potencial antagônico deste gênero sob uma gama de fitopatógenos.

Além de isolados de *Bacillus* apresentarem a característica fungistática sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos, estes tem se mostrado promissor no biocontrole de inúmeras doenças de plantas. KUPPER et al. (2003) na avaliação da influência do cultivo pareado de isolados de *Bacillus* spp. sobre *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos (*Citrus* spp.) observaram que todos os isolados promoveram inibição no crescimento micelial *in vitro* do fitopatógeno, assim como, em campo e em casa de vegetação quando plantas tratadas com os agentes de controle biológico, anteriormente ou simultaneamente à inoculação de *C. acutatum* reduzindo a intensidade de doença.

4.4 Efeito de Fungitóxico de Produtos Abióticos na Inibição do Crescimento Micelial de *C. cassiicola*

No geral, os produtos abióticos Ecolife® e Stubble-Aid® favoreceram a inibição do crescimento micelial de *C. cassiicola*, diretamente proporcional ao aumento das concentrações utilizadas, reduzindo o crescimento do fungo em meio BDA, diferindo significativamente da testemunha. O produto Ecolife® promoveu inibição de 76,22 % nas concentrações 0,75 e 1 % do crescimento micelial de *C. cassiicola*, não diferindo significativamente da concentração a 0,5 % (Tabela 5).

Tabela 5. Efeito dos Produtos Abióticos Ecolife® e Stubble-Aid® sobre o Crescimento Micelial *in vitro* de *C. cassicola* em meio BDA, mantidas por 10 dias de incubação (25°C±2°C).

| Tratamentos | Concentração | | | | | | | | Média |
|--------------|--------------------------|---------|--------------------------|---------|--------------------------|---------|--------------------------|---------|--------|
| | 0,25 % | | 0,5 % | | 0,75 % | | 1 % | | |
| | Diâmetro da colônia (cm) | PIC (%) | Diâmetro da colônia (cm) | PIC (%) | Diâmetro da colônia (cm) | PIC (%) | Diâmetro da colônia (cm) | PIC (%) | |
| Ecolife® | 5,21 bA | 37,22 | 2,92 bB | 67,56 | 2,14 bB | 76,22 | 2,14 bB | 76,22 | 2,96 b |
| Stubble-Aid® | 6,16 bA | 31,56 | 2,87 bB | 61,89 | 2,12 bB | 76,44 | 0 cC | 100 | 2,92 b |
| Testemunha | 9,00 aA | | 9,00 aA | | 9,00 aA | | 9,00 aA | | 9,00 a |
| Média | 6,93 a | | 5,11 b | | 4,41 bc | | 3,38 c | | 4,96 |

Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si estatisticamente pelo Teste de Tukey ao nível de 5 % de probabilidade. Letras maiúsculas (linhas); Letras minúsculas (colunas). CV (%) 15,24; DMS 1,3 (colunas); 1,44 (linhas).

A redução do crescimento micelial *in vitro* utilizando produtos a base de biomassa cítrica (Ecolife®) também foi observada por outros autores. Abreu et al. (2008) utilizando o Ecolife® na concentração de 1000 µL L⁻¹ no controle pós-colheita da podridão parda e da podridão mole em pêssegos observaram inibição *in vitro* de 100 % do crescimento radial de *Monilinia fructicola*.

A ação controladora também foi verificada por Silva (2007) avaliando o efeito de Ecolife® no controle alternativo do Mal-do-panamá da bananeira observou que as concentrações 0,5; 0,75 e 1 % inibiram o crescimento micelial *in vitro* em 100 % de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

Resultados semelhantes foram encontrados por Barguil et al. (2005), avaliando o efeito de Ecolife® *Phoma costarricensis* Echandi do cafeeiro observaram que concentrações de 0,25; 0,5 e 1 % reduziram significamente o crescimento do fitopatógeno, e que a inibição é diretamente proporcional ao aumento das concentração dos produtos. Vilás-Boas et al. (2004), avaliando o efeito de Ecolife® sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* no cafeeiro, concordando com os resultados desta pesquisa.

A mesma ação foi observada por Motoyama et al. (2003) trabalhando com Ecolife® que verificaram atividade antifúngica *in vitro* contra *C. lagenarium*. Por outro lado, este mesmo produto não se mostrou eficiente na inibição do crescimento micelial *in vitro* de *C. gloeosporioides*. Bernardo et al. (2001) constataram que concentrações a partir de 1 % promoveu inibição de 100 % dos fungos *R. solani*, *F. semitectum*, *Sclerotium rolfsii* e *B. sorokinanai*;

O produto Stubble-Aid® a 1 % mostrou-se mais eficiente na inibição de *C. cassicola* promovendo inibição *in vitro* de 100 %. Todavia, este produto apresentou diferença significativa do Ecolife na mesma concentração (Tabela 5).

Até o momento, são reduzidas as pesquisas utilizando o produto Stubble-Aid®, porém, os resultados encontrados nesta pesquisa estão de acordo com Costa (2007), que verificou que este produto apresenta ação bacteriana *in vitro* contra *Ralstonia solanacearum* (Smith), biovares I e III, sendo diferenciada em função das doses e dos biovares utilizados, promovendo inibição de 99 % do fitopatógeno. Nos ensaios *in vivo* o mesmo produto na dose de 10 mL/L mostrou-se eficiente no controle da murcha-bacteriana, mostrando potencial no controle da doença em cultivo protegido.

A mesma ação bacteriana foi observada por Momol et al. (2005) utilizando o produto Stubble-Aid® no pré-plantio do tomate no tratamento do solo, promovendo a diminuição da

população de *R. solanacearum* e reduzindo significativamente a doença em cultivares susceptíveis.

Resultados semelhantes foram observados por JI et al. (2004) quando utilizaram Stubble-Aid® juntamente com produtos da empresa Improcop (ISR 2000 e Agromós), protegendo de forma significativa as plantas de tomate da cultivar Solar Set contra murcha bacteriana causada por *R. solanacearum*. Estes resultados indicam que o Ecolife® e o Stubble-Aid® possuem substâncias que promoveram a inibição do crescimento micelial de *C. cassiicola*, apresentando característica fungitóxica ao fitopatógeno (Figura 8).

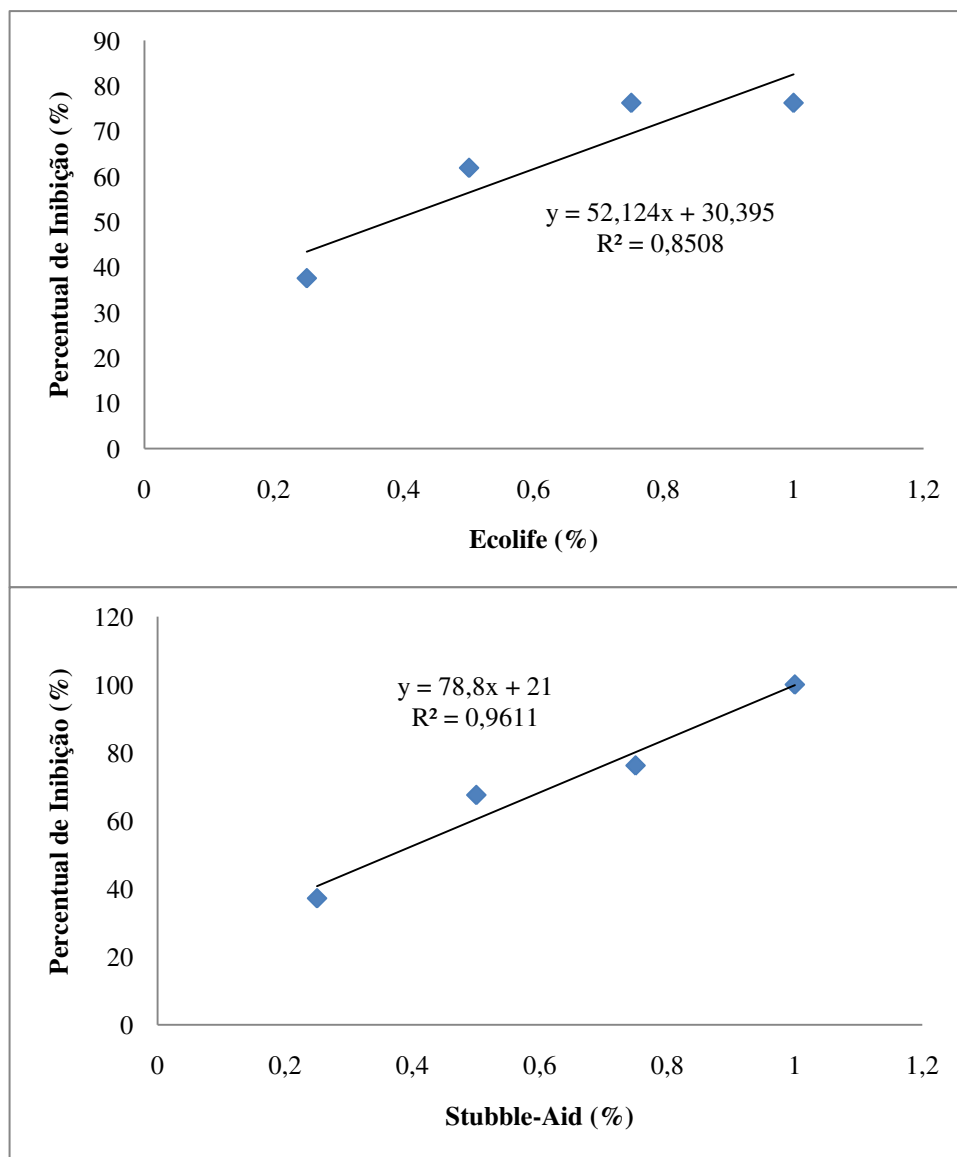


Figura 8. Percentual de Inibição do Crescimento Micelial de *C. cassiicola* na presença dos Produtos Abióticos Ecolife® e Stubble-Aid® em diferentes concentrações em meio BDA

5 CONCLUSÃO

- Todas as variedades e seleções apresentaram-se doentes, variando 89,69 a 100 % de folhas com lesões, ocasionando a redução do desenvolvimento das plantas, seguido de morte;
- A seleção Golden e Golden Verde Escuro apresentaram característica tolerante ao fitopatógeno, apresentando reduzido número de lesões por folha, mostrando-se promissoras em programas de melhoramento genético visando à obtenção de cultivares resistentes;
- As seleções Canaã Sunrise Solo e Canaã Golden apresentaram maior número de lesões por folha, 98,75 e 77,12, respectivamente, não sendo recomendado o plantio das mesmas para produtores da Ilha de São Luís, Maranhão, ou em locais com as mesmas condições climáticas;
- Os conídios do fungo *C. cassiicola* em meio BDA apresentaram formatos retos e ligeiramente curvos, constituindo de 3 – 8 septos, medindo 76,76 – 165,26 μm de largura e 13,50 – 21,90 μm (média de 16,54 x 98,15 μm) apresentando hilo na junção do conídio com o conidióforo;
- Os extratos de nim, citronela e eucalipto, e óleo de nim apresentaram efeito inibitório sobre o crescimento micelial de *C. cassiicola*;
- O óleo de nim atingiu percentuais de inibição variando de 61,66 a 69,88 % nos quatro períodos de avaliação, não diferindo significamente entre concentrações, mostrando-se eficiente economicamente em baixas concentrações.;
- Os isolados de *Bacillus* apresentaram potencial antagônico sob o crescimento micelial *in vitro* de *C. cassiicola*.
- De todos os isolados de *Bacillus* testados na inibição de *C. cassiicola* o isolado 31 (*B. cereus*) mostrou-se mais promissor como agente de controle biológico ao fitopatógeno em estudo, apresentando percentual de inibição de 63,36 %;
- Os produtos abióticos Ecolife® e Stubble-Aid®, em todas as concentrações inibiram o crescimento de *C. cassiicola* em BDA, sendo esta associação devido à riqueza da composição dos produtos, promovendo percentual de inibição variando de 31,56 a 100 %;
- O produto Stubble-Aid® na concentração 1 % apresentou inibição de 100 % de *C. cassiicola*;

- O uso de extratos vegetais, óleo de nim, produtos abióticos e o biocontrole com *Bacillus* nos testes *in vitro* promoveram a inibição do crescimento micelial de *C. cassiicola* apresentando potencial para o manejo integrado da Mancha-alvo do mamoeiro.

REFERÊNCIAS

AMADIOHA, A.C.; OBI, V.I. Fungitoxic Activity of Extracts from *Azadirachta indica* and *Xylopiya aethiopia* on *Colletotrichum lindemuthianum* in Cowpea. **Journal Herbs, Spices & Medicinal Plants**, Amherst, vol. 6, p. 2, p. 33-40, 1998.

ABREU, F.M., LOURENÇO, S.A., BASSETTO, E., GONÇALVES, F.P., MARTINS, M.C., AMORIM, L. Efeito de sanificantes no controle pós-colheita da podridão parda (*Monilinia fructicola*) e da podridão mole (*Rhizopus stolonifer*) em pêssegos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.34, n.1, p.86-88, 2008.

ANGONESE, M.T.; DELLA GIUSTINA JÚNIOR, L.H.P.; PANSERA, M.R.; PAGNO, R.S.; MEZZOMO, F.; ZORZI, E.; PEREIRA, C.O.F.; RIBEIRO, R.T. da S. Efeito Fungistático de *Bacillus* spp. sobre Fungos Fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre, v.4, n. 2, p. 96-100, 2009.

ALEXOPOULOS, C.J.; MIMS, C.W.; BLACKWELL, M. **Introductory Mycology**, 4 ed. New York: John Wiley & Sons Inc., 1996. 880 p.

ALMEIDA, A.M.R.; VASCONCELOS, M.J.V.; ABDELNOOR, R.V.; YORINORI, J.T.; BARROS, E.G.; MOREIRA, M.A. Diferenciação de isolados de *Corynespora cassiicola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, vol. 29, supl., p. 316, 1994.

ALMEIDA, A.M.R.; FERREIRA, L.P.; YORINORI, J.T.; SILVA, J.F.V.; HENNING, A.A. Doenças da soja. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. (Eds.). **Manual de Fitopatologia**, vol. 2. Doenças das plantas cultivadas. São Paulo: Agronômica Ceres, Cap. 61, p.569-588, 2005.

AMADIOHA, A.C. Controlling rice blast in vitro and *in vivo* with extracts of *Azadirachta indica*. **Crop Protection**, Leiden, v. 19, n. 5, p. 287-290, 2000.

ANDRADE, J. de S.; VENTURA, J.A.; RODRIGUES, S. P.; COUTO, A. de O.F.; LIMA, R. de C.A.; TATAGIBA, J. da S.; FERNANDES, P.M.B.; MARTINS, D. dos S. Evidência da não transmissão do vírus da meleira por mosca-branca *Trialeurodes variabilis* (Quaintance, 1900). In: MARTINS, D. dos S. (ed.). **Papaya Brasil: qualidade do mamão para o mercado interno**. Vitória: Incaper, p.605-608, 2003.

ASSUMPCÃO, L. C.; LACAVA, P. T.; DIAS, A. C. F.; AZEVEDO, J. L.; MENTEN, J. O. M. Diversidade e potencial biotecnológico da comunidade bacteriana endofítica de sementes de soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 44, n. 5, p. 503-510, 2009.

BALDO, M. Potencial do extrato bruto de *Cymbopogon citratus* (capim-limão) e *Cymbopogon nardus* (citronela) no controle *in vitro* de *Cladosporium fulvum* do tomateiro. 2005. **Monografia** (Graduação em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon [2005].

BALDOTTO, L. E. B.; BALDOTTO, M. A.; OLIVARES, F. L.; VIANA, A. P.; BRESSAN-SMITH, R. Seleção de bactérias promotoras de crescimento no abacaxizeiro cultivar Vitória durante a aclimatização. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Campinas, v. 34, n. 2, p. 349-360, 2010.

BARGUIL, B.M.; RESENDE, M.L.V.; RESENDE, R.S.; BESERRA JÚNIOR, J.E.A. SALGADO, S.L. Effect of extrats from citric biomass, rusted coffee leaves and coffee berry husks on *Phoma costarricensis* of coffee plants. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, p. 535-537. 2005.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 3º edição, Mineapolis, (Minessotta): Burgess Publishing Company, 1972. 841 p.

BARRA, V.R.; ROMEIRO, R.S.; FERRAZ, H.G.M.; MACAGNAN, D.; SILVA, H.S.A.; MOURA, A.B.; HALFELD-VIEIRA, B.A; MENDONÇA, H.L.; VIEIRA JÚNIOR, J. R. Potencialidade antagonística em alguns procariotas agentes de biocontrole de enfermidades de plantas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.34, n.2, p.121-126, 2008.

BASHAN, Y. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in Agriculture. **Biotechnology Advances**, Oxford, v.16, n.4, p.729-770, 1998.

BASTOS, C.N. Efeito do Ecolife - 40 no controle da vassoura-de-bruxa do cacauieiro. **Agrotrópica**, Ilhéus, v. 16, n. 3, p. 73 – 76, 2004.

BATISTA JÚNIOR, C.B.; ALBINO, U.B.; MARTINES, A.M.; SARIDAKIS, D.P.; MATSUMOTO, L.S.; AVANZI, M.A.; ANDRADE, G. Efeito fungistático de *Bacillus thuringiensis* e de outras bactérias sobre alguns fungos fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, n. 8, p. 1189-1194, 2002.

BENASSI, A.C. A economia do mamão. 2006. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostr_conteudo.asp?conteudo=14291.htm>. Acesso em: 24 set. 2008.

BERG, G.; KRECHEL, A.; DITZ, M.; SIKORA, R. A.; ULRICH, A.; HALLMANN, J. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and

antagonistic function against plant pathogenic fungi. **FEMS Microbiol Ecology**, Amsterdam, v. 51, n. 2, p. 215-229, 2005.

BERNARDO, R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; FIORI, A.C.G. Efeito de extrato cítrico na indução de resistência e no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, supl., p. 313, 2001.

BETTIOL, W.; GARIBALDI, A.; MIGHELI, Q. *Bacillus subtilis* for the control of powdery mildew on cucumber and zucchini squash. **Bragantia**, Campinas, v. 56, n. 2, p. 281-287, 1997.

BOAVA, L.P. Ação de indutores bióticos e abióticos no controle da ferrugem do eucalipto, atividade enzimática e expressão gênica durante o processo de infecção. 2008. 181f. Tese (Doutorado) Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Ciências Agronômicas da UNESP, Botucatu, 2008.

BONALDO, S.M. Fungitoxicity, phytoalexins elicitor activity and protection of cucumber against *Colletotrichum lagenarium*, by *Eucalyptus citriodora* aqueous extract. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p.128-134, 2004.

BONALDO, S.M.; PASCHOLATI, S.T. ; ROMEIRO, R.S. Indução de resistência: noções básicas e perspectiva. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F. RESENDE, M.L.V; ROMEIRO, R.S. (Eds.). **Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos**. Piracicaba: FEALQ, p. 11-28, 2005.

BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M.E.S.; FIORI-TUTIDA, A.C.G. Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.4, p.383-387, 2007.

BRETON, F.; SANIER, C.; D'AUZAC. Role of cassiicolon, a rost-selective toxin, in pathogenicity of *Corynespora cassiicola*, causal of a leaf fall disease of *Heave*. **Journal of Rubber Research**, Malaysia, v.3, n. 2, p. 115-128, 2000.

CARNEIRO, S.M.T.P.G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 29, n. 3, p. 262-265, 2003.

CARNEIRO, S. de T.P.G.J.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M.E. da C.; GOMES, J.C. Eficácia de extrato de nim para o controle do Oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 1, p.34-39, 2007.

CASTRO, O.L.; BACH, E.E. Increased production of β -1:3-glucanase and protein in *Bipolaris sorokiana* pathosystem treated using commercial xanthan gum. **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 42, p. 165-169, 2004.

CATTELAN, A.J.; HARTEL, P.G. Traits associated with plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR). **Tópicos em Ciência do Solo**, Campinas, v. 1, n. 1, p. 213-234, 2000.

CAVALCANTI, L.S.; RESENDE, M.L.V.; ZACARONI, A.B.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; COSTA, J.C.B.; SOUZA, R.M. Acibenzolar-S-metil e Ecolife® na indução de respostas de defesa do tomateiro contra mancha bacteriana (*Xanthomonas vesicatoria*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 30, n. 1, p. 372-380. 2006.

CAZORLA, F. M.; ROMERO, D.; PEREZ-GARCIA, A.; LUGTENBERG, B. J. J.; DE VICENTE, A.; BLOEMBERG, G. Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizosphere displaying biocontrol activity. **Journal of Applied Microbiology**, Danvers, v. 103, p. 1950-1959, 2007.

CHATTOPADHYAY, C. Yield loss attributable to *Alternaria* blight of sunflower (*Helianthus annuus* L.) in India and some potentially effective control measures. **International Journal of Pest Management**, London, v.45, n.1, p.15-21, 1999.

CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R.R. Defense responses induced by soluble silicon in cucumber roots infected by *Phytophthora* sp. **Phytopathology**, St. Paul, v. 84, p. 236-242, 1994.

CIMANGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; BRUYNE, T.; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A.J. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal Ethnopharmacol**, v. 26, n. 2, p. 213-220, 2002. <<http://www.sciencedirect.com>>. Acesso em: 20 jul. 2009.

CIPOLLINI, D.F. Does competition magnify the fitness costs of induced responses in *Arabidopsis thaliana*? A manipulative approach. **Oecologia**, Berlin, v. 131, p. 514-520, 2002. Artigo eletrônico. Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/Fungos/index.htm>. Acesso em: 12 ago. 2010.

COOK, A.A. **Diseases of tropical and subtropical fruits and nuts**. New York: Hafner Press. 1975. 317p.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. Lisboa. Fundação Calouste Gulbenkian. 1986. 841p.

COSTA, V.C. Avaliação de Acibenzolar-S-Metil, Extrato Cítrico e Fermentado Bacteriano no controle da Murcha-bacteriana (*Ralstonia solanacearum*) do tomatario (*Lycopersicon esculentum* Mill.). 2007. 44f. **Dissertação** (Mestrado) Pós-graduação em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2007.

COSTA, M.J.N., ZAMBOLIM, L.; RODRIGUES, F.A. Avaliação de produtos alternativos no controle da ferrugem do cafeeiro, **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p.150-155. 2007.

CUTRIM, F.A., SILVA, G.S. Patogenicidade de *Corynespora cassiicola* a diferentes espécies de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2, p. 193-194, 2003.

DANTAS, S. A. F.; OLIVEIRA, S. M.; BEZERRA NETO, E. B.; COELHO, R. S. B.; SILVA, R. L. X. Indutores de resistência na proteção do mamão contra podridões póscolheita. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v.30, n.3, 2004.

DANGL, J.; JONES, J.D.G. Plant pathogens abd integrated defense responses to infection. **Nature**, London, n. 68, v.411, p. 826-833, 2001.

DELASQUI, P.J.; STANICH, K.; GIRARD, B.; MAZZA, G. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and *eucalipytus* essential oils. **Foods Microbiological**. New York, v. 52, p. 101-109, 2002.

DIANESE, A.C., BLUM, L.E.B., DUTRA, J.B., LOPES, L.F., SENA, M.C., FREITAS, L.F. & YAMANISHI, O.K. Reação de genótipos de mamoeiro à varíola e à podridão-do-pé. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 419-423, 2007.

DIAS-ARIEIRA, C.R.; FERREIRA, L.R.; ARIEIRA, J.O.; MIGUEL, E.G.; DONEGA, M.A.; RIBEIRO, R.C.F. Atividade do óleo de *Eucalyptus citriodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.3, p.228-232, 2010.

DUARTE, M.L.R.; ASANO, S.; ALBUQUERQUE, F.C. Estudos comparativos das características morfológicas e fisiológicas de dois isolamentos de *Corynespora cassiicola*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.8, n.2, p.205-214, 1983.

EDIGINGTON, L.V.; KHEW K.L.; BARRON, G.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazoles compounds. **Phytopathology**, St. Paul, v. 61, 1971. p. 42-44.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Surrey: CAB-Commonwealth Mycological Institute, 1971. 608p.

ESTANISLAU, A. A.; BARROS, F. A. S.; PENA, A. P.; SANTOS, S. C.; FERREIRA, P. H.; PAULA, J. R. Composição química e atividade antibacteriana dos óleos essenciais de cinco espécies of *Eucalyptus* cultivados em Goiás, **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 11, n. 2, p.95-100, 2001.

FAO, Faostat. Agricultural statistic databases. Home: World Agricultural Information Centre. Disponível em: <http://faostat.org.br> Acesso em: 20 jan. 2011.

FERNANDES, R. C.; BARRETO, R. W. *Corynespora cassiicola* causing leaf spots on *Coleus barbatus*. **Plant Pathology**, Sydney, v. 52, p. 786, 2003.

FERRAZ, H.G.M.; ROMEIRO, R.S.; GARCIA, F.A.O.; SOUZA, A.N. Biocontrole da mancha-alvo do tomateiro por *Bacillus cereus* em Função do Modo de Dispensa na Planta. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 2, n. 2, p. 35, 2008.

FIGUEIREDO, J.E.F.; TEIXEIRA, M.A.; LIMA, G.V.C.; BRESSAN, W., PINTO, N.F.J.; CASELA, C.R. Atividade antagonista *in vitro* de *Bacillus subtilis* contra fungos fitopatogênicos do milho e sorgo. **XXVIII Congresso Nacional de Milho e Sorgo**, Goiânia, Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010.

FIORI, A.C.G.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; VIDA, J.B.; SCAPIM, C.A.; CRUZ, M.E.S.; PASCHOLATI, S.F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 148, p. 483-487, 2000.

FURTADO, L.M.; RODRIGUES, A.A.C.; ARAÚJO, V.S.; SILVA, L.L.S.; CATARINO, A.M. Utilização de Ecolife® e Acibenzolar –s-metil (ASM) no Controle da Antracnose da banana em pós-colheita. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.3, p.237-239, 2010.

GHINI, R.; BETTIOL, W. Proteção de plantas na agricultura sustentável. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v.17, n.1, p.61-70, 2000.

GOLDBLATT, L.A. Mycotoxins-Past, present and future. **Journal American Oil Chemists Society**, Chicago, v.54, p.302-310, 1977.

GOVINDACHARI T.; SANDHYA, G.; GOPALAKRISHNAN, G.; BANUMATHY, B.; MASILAMANI, S. Identification of antifungal compounds from de seed oil of *Azadirachta indica*. **Phytoparasitica**, Bet Dagan, v. 26, n. 2, p. 1-8, 1998.

HALFELD-VIEIRA, B.A.; VIEIRA, J.R.; ROMEIRO, R.S.; SILVA, H.S.A.; BARACATPEREIRA, M.C. Induction of systemic resistance in tomato by the autochthonous phylloplane resident *Bacillus cereus*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v.41, p.1247-1252, 2006.

HAMMAMI, I.; RHOUMA, A.; JAOUADI, B.; REBAI, A.; NESME, X. Optimization and biochemical characterization of a bacteriocin from a newly isolated *Bacillus subtilis* strain 14B for biocontrol of *Agrobacterium* spp. strains. **Letters in Applied Microbiology**, Italy, v.48, p.253–260, 2009.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Produção Agrícola Municipal: culturas temporárias e permanentes. Rio de Janeiro, v. 36, p. 74, 2009.

JAMES, J.D.; REYNOLDS, E.F. **Martindale: the extra pharmacopeia**. 29 ed., Londres: Pharmaceutical Press, 1989.

JAYASURIYA, K.E.; THENNAKON, B.I. First report of *Corynespora cassiicola* on *codiaeum variegatum* (croton) in Sri Lanka. **Ceylon Journal of Science (Biological Sciences)**, v. 36, n. 2, p. 138-141, 2007.

Jl, P.; MOMOL, M.T.; TOSUN, N. **Alltech's 20 th Annual Symposium**. Kentucky, 2004.

KESSLER, A.; BALDWIN, I.T. Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis. **Annu. Rev. Plant Biol.**, v. 53, p. 299–328, 2002.

KHANUJA, S.P.S.; SHASANY, A.K.; PAWAR, A.; LAL, R.K.; DAROKAR, M.P.; NAQVI, A.A.; RAJKUMAR, S.; SUNDARESAN, V.; LAL, N.; KUMAR, S. Essential oil constituents and RAPD markers to establish species relationship in *Cymbopogon* Spreng. (Poaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.33, p.171-186, 2005.

KRUPPA, P.C.; RUSSOMANO, O.M.R. Fungos em plantas medicinais, aromáticas e condimentares – solo e semente. 2009. Artigo eletrônico. Disponível em:<http://www.infobibos.com/Artigos/2009_1/Fungos/index.htm>. Acesso em: 20 nov. 2009.

KUPPER, K.C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p.251-257, 2003.

KURITA, N.; MAKOTO, M.; KURANE, R.; TAKAHARA, Y. Antifungal activity of components of essential oils. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v.45, p.945-952, 1981.

LANNA FILHO, R.; FERRO, H.M.; PINHO, R.S.C. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, Chapadinha, v. 4, n. 2, p. 12, 2010.

LEE, S.O.; CHOI, G.J.; JANG, K.S.; LIM, H.K.; CHO, K.Y.; KIM, J.C. Antifungal Activity of Five Plant Essential Oils as Fumigant Against Postharvest and Soilborne Plant Pathogenic Fungi. **Plant Pathology Journal**, Daejeon, v. 23, n. 2, p. 97-102, 2007.

LEELASUPHAKUL, W.; HEMMANEE, P.; CHUENCHITT, S. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolite against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Curitiba, v.48, p.113-121, 2008.

LEROY, M.; LOURD, M. Doença foliar do tomateiro causada por *Corynespora cassiicola* em Manaus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.14, n.1, p.32-36, 1989.

LIU, C. H.; CHEN, X.; LIU, T. T.; LIAN, B.; GU, Y.; CAER, V.; XUE, Y. R.; WANG, B. T. Study of the antifungal activity of *Acinetobacter baumannii* LCH001 *in vitro* and identification of its antifungal components. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 76, p. 459-466, 2007.

MADI, L.; KATAN, J. *Penicillium janczewskii* and its metabolites, applied to leaves, elicit systemic acquired resistance to stem rot caused by *Rhizoctonia solani*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 53, p. 163-175, 1998.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. PARKER, J.E. **Brock Biology of Microorganisms**. 10 ed. New York: Prentice Hall, 2003. 1104 p.

MANICA, I. Taxionomia – Morfologia – Anatomia. In: MANICA, I.; MARTINS, D. dos S.; VENTURA, J.A. **Mamão: Tecnologia de produção, pós-colheita, exportação, mercados**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 19-48 p, 2006.

MAYEE, C.D.; SURYAWANSHI, A.P. Structural defense mechanisms in groundnut to late leaf spot pathogen. **Indian Phytopathology**, Jodhpur, v. 48, p.160-165, 1995.

MARIANO, R.L.R. Métodos de seleção *in vitro* para o controle microbiológico de patógenos de plantas. In: LUZ, W.C.; FERNANDES, J.M.; PRESTES, A.M.; PICNINI, E.C. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, 1993.

MARQUES, M.W.; COILA, V.H.C.; LOPES, R.A.M.; NAUE, C.R.; LIMA, N.B.; ROSSETTO, E.A. Avaliação da atividade antifúngica do extrato de *Eucalyptus* sp sobre o crescimento de fitopatógenos. Disponível em: http://www.ufpel.edu.br/cic/2008/cd/pages/pdf/CA/CA_01275.pdf. Acesso em: 18 jan. 2010.

MARTINEZ, S.S. **O Nim - Azadirachta indica**: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: Instituto Agrônômico do Paraná, 2002. 142p.

MARTINS, D. dos S.; COSTA, A. de F. da (eds.). **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produção**. Vitória, ES: Incaper, 2003. 497p.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R.T.; MAGNO JÚNIOR, R.G.; LOPES, E. A. das G.L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

MELO, I.S. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas: descrição e potencial de uso na agricultura. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. **Ecologia Microbiana**, Jaguariúna: Embrapa – CNPMA, 1998. 488 p.

MELO, L. S.; VALARINI, P. J. Potencial de rizobactérias no controle de *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. em pepino (*Cucumis sativum* L.). **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 52, n. 2, p. 326-330, 1995.

MELO, M.M. de. Produção de esporos e inoculação de *Corynespora cassiicola* em soja. 2009. 76f. **Dissertação** (Mestrado) Pós-graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Passo Fundo, 2009.

MELO, M. M.; REIS, E. M. Pathogenicity, thermal thresholds and optimal temperature for *Corynespora cassiicola* conidium germination in culture medium. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.36, n.3, p.254-256, 2010.

MENEZES, M.; ASSIS, J.P. **Guia prático de fungos fitopatogênicos**. Recife, UFRPE – Imprensa Universitária, 2004. 106 p.

MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance and salicylic acid current state of knowledge. **European Journal Plant Pathology**, Dordrecht, v. 107, p. 8-13, 2001.

MIGUEL, E. G., FERREIRA, L. R., DONEGA, M. A., DIAS-ARIEIRA, C. R.; AVILA, M. R. Atividade de extratos de nim (*Azadirachta indica*) sobre o crescimento de *Colletotrichum* spp. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 32 (supl.),p.18, 2006.

MOMOL, J.P.; OLSON, S.M.; HONG, J.; PRADHAMANG, P.; ANITH, K.N.; JONES, J.B. New tactics for bacterial wilt management on tomatoes in the southern. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 965, p. 153-160, 2005.

MONOT, C.; PAJOT, E.; LE CORRE, D.; SILUÉ, D. Induction of system resistance in broccoli (*Brassica oleracea* var. *botrytis*) against downy mildew (*Peronospora parasitica*) by avirulent isolates. **Biological control**, Orlando, v. 24, p. 75-81, 2002.

MOREIRA, C.G.A.; SCHWAN-Estrada, K.R.F.; BONALDO, S.M.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Caracterização parcial de frações obtidas de extratos de *Cymbopogon nardus* com atividade elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja e efeito sobre *Colletotrichum lagenarium*, **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.34, n.4, p.332-337, 2008.

MOTOYAMA, M. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; FIORITUTIDA, A. C. G.; SCAPIM, C. A. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 25, p. 491-496, 2003.

MOSSINI, S.A.G.; KEMMELMEIER, C. A árvore Nim (*Azadirachta indica* A. Juss): Múltiplos Usos. Maringá. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 24, n.1, p - 139-148, 2005. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com> >. Acesso em: 17 out 2009.

M'PIGA, P.; BÉLANGER, R.R.; PAULITZ, T.C.; BENHAMOU, N. Increased resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in tomato plants treated with the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain 63-28. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, Michigan, v. 50, n. 5, p. 301-320, 1997.

NASCIMENTO, I de V. Isolamento, identificação e seleção de *Bacillus* spp. Para o biocontrole de fitopatógenos do arroz. 2009. 109f. **Dissertação** (Mestrado) Pós-Graduação em Agroecologia, Universidade Estadual do Maranhão, São Luís, 2009.

NIELSEN, P.; SØRENSE, J. Multi-target and médium-independent fungal in *Paenibacillus polymyxa* and *Bacillus pumillus* Strains from barley rhyzosphere. **FEMS Microbiology Ecology**, Amsterdam, v. 22, p. 183-192, 1997.

OGBEBER, N.O.; ADEKUNLE, A.T.; ANOBAKHARE, D.A. Inhibition of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. Casual organism of rubber (*Heave brasiliensis* Muell. Arg.) leaf spot using plant extract. **African Journal of Biotechnology**, Naiorob, v. 6, n. 3, p. 213-218, 2007.

ONGENA, M.; JOURDAN, E.; ADAM, A.; PAQUOT, M.; BRANS, A.; JORIS, B.; ARPIGNY, J.-L.; THONART, P. Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. **Environmental Microbiology**, New Jersey, v.9, p.1084-1090, 2007.

OLIVEIRA, A.A R.; SANTOS FILHO, H.P. Mancha de *Corynespora*. EMBRAPA, 1 ed. 2p CNPMF/EMBRAPA, Cruz das Almas, 2006. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/produto_em_foco/mamao_23.pdf> Acesso em: 10 ago. 2010.

OLIVEIRA JÚNIOR, M.E. de. Importância Econômica. In: MANICA, I.; MARTINS, D. dos S.; VENTURA, J.A. **Mamão: Tecnologia de produção, pós-colheita, exportação, mercados**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2006. 361 p.

OLIVEIRA, R.R., VIDA, J.B., TESSMANN, D.J., AGUIAR, B.M., CAIXETA, M.P, BARBOZA, A.A.L.. Patogenicidade de isolados de *Corynespora cassiicola* a diferentes espécies de plantas. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.3, p.297-299, 2007.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia**. São Paulo: Ceres, v. 1, p.417-453, 1995.

PEREIRA, J.M.; BARRETO, R.W. Addition to the mycobiota f the weed *Lantana camara* (Verbenaceae) in southeastern Brazil. **Mycopathology**, v. 151, p. 71-80, 2000.

PETRAS, S. F.; CASIDA, L. E. J. Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 50, p. 1496-1501, 1985.

POLTRONIERI, L.S., DUARTE, M.L.R., ALFENAS, A.C., TRINDADE, D.R.; ALBUQUERQUE, F.C. Three new pathogens infecting Antilles cherry in the State of Pará. **Fitopatologia Brasileira**, Botucatu, v. 28, p. 424-426, 2003.

PRITHIVIRAJ, B.; SINGH, U.P.; SINGH, K.P.; PLANK-SCHUMACHER, K. Field evaluation of ajoene, a constituent of garlic (*Allium sativum*) and neemazal, a product of neem (*Azadirachta indica*) for the control of powdery mildew (*Erysiphe pisi*) of pea (*Pisum sativum*). **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, Stuttgart, v. 105, n.3, p.274-278, 1998.

QUINTANS-JÚNIOR, L.J., ALMEIDA, J.R.G.S., LIMA, J.T., NUNES, X.P., SIQUEIRA, J.S., OLIVEIRA, L.E.G., ALMEIDA, R.N., ATHAYDE-FILHO, P.F., BARBOSA-FILHO, J.M. Plants with anticonvulsant properties - a review. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 18, p. 798-819, 2008.

RESENDE, M. L. V.; COSTA, J. C.; CAVALCANTI, F. R.; JUNIOR, P. M. R.; CAMILO, F.R. Seleção de extratos vegetais para indução de resistência e ativação de respostas de defesa em cacaueteiro contra a vassoura-de-bruxa. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, n. 2, p.123-130, 2007.

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S.; FIORI-TUTIDA, A.C.G.; Avaliação antifúngica de extratos de gengibre e eucalipto “in vitro” e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Acta Scienc Agronomias**, Maringá, v. 28, n. 1, p. 123-127, 2006.

ROMEIRO, R.S.; LANNA-FILHO, R.; VIEIRA, J.R.; SILVA, H.S.A.; BARACAT-PEREIRA, M.C.; CARVALHO, M.G. Macromolecules released by a plant growth-promoting rhizobacterium as elicitors of systemic resistance in tomato to bacterial and fungal pathogens. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.153, p.120-123, 2005.

RYU, C.M.; FARAG, M.A.; HU, C.-H.; REDDY, M.S.; KLOEPPER, J.W.; PARÉ, P.W. Bacterial Volatiles Induce Systemic Resistance in Arabidopsis. **Plant Physiology**, Waterbury, v.134, p.1017–1026, 2004.

SCHISLER, D. A.; SLININGER, J. P.; BEHLE, W. R.; JACKSON, A. M. Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. **Phytopathology**, St. Paul, v. 94, p. 1267-1271, 2004.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Potencial de extratos e óleos essenciais de vegetais como indutores de resistência plantas medicinais. In: PASCHOLATI, S. F. (Cord.). **1ª Reunião Brasileira sobre indução de resistência em plantas contra fitopatógenos / Perspectivas para o século XXI**. São Pedro, p. 27-28. 2002.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 28, p. 54-56, 2003.

SIDIQUI B.S.; AFSHAN F.; GULZAR T.; SULTANA R.; NAQVI S.N.; TARIQ R.M. Tetracyclic triterpenoids from the leaves of *Azadirachta indica* and their insecticidal activities. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Japão, v. 51, n. 4, p. 415-417, 2003.

SILVA, J.C. da. Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistência no controle alternativos do mal-do-panamá da bananeira. 2007. 68f. **Dissertação** (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal de Alagoas, Rio Lago. 2007.

SILVA, W.P.K.; MULTANI, D.S.; DEVERALL, B.J.; LYON, B.R. RFL and RAPD analyses in the identification and differentiation of isolates of the leaf spot fungus *Corynespora cassiicola*. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v.43, n.3, p.609-618, 1995.

SILVA, G. S., RODRIGUES, A. A. C., SOARES JÚNIOR, A.C. Mancha de *Corynespora* em acerola (*Malpighia glabra*). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 452. 1997.

SILVA, W. P. K.; DEVERALL, B. J.; LYON, B. R. Molecular, physiological and pathological characterization of *Corynespora* leaf spot fungi from rubber plantations in Sri Lanka. **Plant Pathology**, Sydney, v.47, p. 267-277, 1998.

SILVA, H.S.A.; ROMEIRO, R.S.; MOUNTEER, A. Development of a root colonization bioassay for rapid screening of rhizobacteria for potential biocontrol agents. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 151, p. 42-46, 2003.

SILVA, H.S.A.; ROMEIRO, R.S. Isolamento e seleção massal de rizobactérias como indutoras de resistência sistêmica à mancha bacteriana pequena do tomateiro. **Ceres**, Viçosa, v. 51, p. 345-354, 2004.

SILVA, H.S.A.; ROMEIRO, R.S.; CARRER, R.; PEREIRA, J.L.A.; MIZUBUTI, E.S.G.; MOUNTEER, A. Induction of systemic resistance by *Bacillus cereus* against tomato foliar diseases under field conditions. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 152, p. 371-375, 2004.

SINGH, U.P.; PRITHIVIRAJ, B. Neemazal, a product of neem (*Azadirachta indica*), induces resistance in pea (*Pisum sativum*) against *Erysiphe pisi*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, v. 51, n.3, p.181-194, 1997.

STEINHAUER, B. Possible ways of using the neem tree to control phytopathogenic fungi. **Plant Research and Development**, Hamburg, v. 50, p. 83-92, 1999.

SIVEIRO, A.; ASSIS, L. A. G. Especificidade de isolados de *Corynespora cassiicola* da região de Manaus. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 18, p. 324, 1993.

SNOW, J. P., BERGGREN JR, G. T. Target spot: In: Compendium of soybean diseases. 3. Ed. St Paul, Minnesota: **American Phytopathological Society**, p. 27-28, 1989.

SOARES, F. P.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; OLIVEIRA, L. M. de; PAIVA, P. D. de O.; SILVA, D. R. G. Cultivo e usos do nim (*Azadirachta indica* A. Juss). **Boletim Agropecuário**, n.º 68, p. 1-14, Lavras, MG, 2010. Disponível em: http://www.editora.ufla.br/site/_adm/upload/boletim/bol_68.pdf. Acesso em: 20 ago. 2010.

SOGLIO, F. K. D. Manejo de doenças na perspectiva da transição agroecológica. In: STADNIK, M. J.; TALAMINI, V. (Eds.). **Manejo Ecológico de Doenças de Plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. 293 p.

SOUZA, I. M. R.; SILVA, G. S. Fungos associados a plantas daninhas na ilha de São Luiz, Maranhão. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.27, n.2, p.267-268, 2001.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e o controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, p. 16-21, 1999.

STICHER, L.; MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J.P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 35, p. 235-270, 1997.

VAN LOON, L.C.; BAKKER, P.A.H.M.; PIETERSE, C.M.J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 453-483, 1998.

VARMA, A.; VERMA, S.; SUDHA, S.N.; BÜTEHORN, B.; FRANKEN, P. *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte. **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, n. 65, n. 6, p. 2741-2744, 1999.

VENTURA, A. J., COSTA, H., TATAGIBA, S. da J. Manejo das doenças do mamoeiro. In: MARTINS, D. dos S., COSTA, A. de F. S. da. (eds.) **A cultura do mamoeiro: tecnologias de produções**. Vitória: Incaper, Cap.11, p.231-308, 2003.

VENTURA, J. A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J. da S. Papaya diseases and integrated control. In: NAQVI, S.A.M.H. (ed.). **Diseases of fruits and vegetables: diagnosis and management**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, p.201-268, 2004.

VENTURA, J.A.; COSTA, H.; TATAGIBA, J da SILVA. Doenças e pragas do mamoeiro. In: MANICA, I.; MARTINS, D. dos S. (Eds.). **Mamão: Tecnologia de produção, pós-colheita, exportação, mercados**. Porto Alegre: Cinco Continentes, Cap. 9, p. 207-241, 2006.

VERZIGNASSI, J.R.; VIDA, J.B.; TESSMAM, D.J. *Corynespora cassiicola* causando epidemias de manchas foliares em pepino ‘japonês’ sob estufa no norte do Paraná. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 38, p. 570, 2003.

VILÁS-BOAS, C.H.; BARRETO, S.S.; BARGUIL, B.M.; RESENDE, M.V.L. Efeito de Ecolife® no crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, supl., p. 158, 2004.

VISWANATHAN, R.; SAMIYAPPAN, R. Induced systemic resistance by fluorescent pseudomonads against red rot disease of sugarcane caused by *Colletotrichum falatum*. **Crop Protection**, Oxford, v. 21, p.1-10, 2002.

WILHELM, E.; ARTHOFER, W.; SCHAFLEITNER, R.; KREBS, B. *Bacillus subtilis*, an endophyte of chestnut (*Castanea sativa*), as antagonist against chestnut blight (*Cryphonectria parasitica*). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, The Hague, v. 52, n. 1/2, p. 105-108, 1998.

WILSON, C. L.; SOLAR, J. M.; EL GHAOUTH, A.; WISNIEWSKI, M. E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. **Plant Disease**, St. Paul, v.81, p.204-210, 1997.

WULFF, E. G.; MGUNI, C. M.; MORTENSEN, C. N.; KESWANI, C. L.; HOCKENHULL, J. Biological control of black rot (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) of brassicas with an antagonistic strain of *Bacillus subtilis* in Zimbabwe. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v. 108, n. 4, p. 317-325, 2002.

YORINORI, J.T.; HOMECHIN, M. Doenças de soja identificadas no Estado do Paraná no período de 1971 a 1976. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.2, n.1, p.108, 1977.

ZIMMERLI, L.; JAKAB, G.; MÉTRAUX, J.P.; MAUCH-MANI, B. Potentiation of pathogen-specific defense mechanisms in *Arabidopsis* by β -aminobutyric acid. **Proceedings of the National Academy of Science USA**, Washington, v. 97, p. 12912-12925, 2000.