



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA



David Vitor dos Santos

Controle alternativo da podridão seca de caule e raiz da graviola (*Annona muricata* L.) causada por *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl no estado de Alagoas

Rio Largo

2015

David Vitor dos Santos

Controle alternativo da podridão seca de caule e raiz da graviola (*Annona muricata* L.) causada por *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl no estado de Alagoas

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal de Alagoas, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Agronomia/Produção Vegetal.

Orientadora: Prof. Dr. Edna Peixoto da Rocha Amorim

Rio Largo

2015

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade

S237c Santos, David Vitor dos.
Controle alternativo da podridão seca de caule e raiz de graviola (*Annona muricata* L.) causada por *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl no estado de Alagoas / David Vitor dos Santos.– 2015.
59 f. : il.

Orientadora: Edna Peixoto da Rocha Amorim.
Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2015.

Bibliografia: f. 49-57.

1. Fungos – Controle alternativo. 2. Graviola – Doenças e pragas.
3. Plantas medicinais. 4. Alagoas. I. Título.

CDU: 632.25

TERMO DE APROVAÇÃO

DAVID VITOR DOS SANTOS

(Matrícula 13130132)

**"CONTROLE ALTERNATIVO DA PODRIDÃO SECA DO CAULE DAS RAÍZES DA
GRAVIOLEIRA CAUSADA POR *LASIODIPLODIA THEOBROMAE*".**

Dissertação apresentada e avaliada pela banca examinadora em dezanove de fevereiro de 2015, como parte dos requisitos para obtenção de Mestre em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal do Programa de Pós-Graduação em Agronomia "Produção Vegetal" da Unidade Acadêmica Centro de Ciências Agrárias da UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS.




Prof. Dr. EURICO EDUARDO PINTO DE LEMOS
Membro



Prof. Dr. MARCELO DE MENEZES CRUZ
Membro



Dr. LEONARDO DA FONSECA BARBOSA
Membro



Prof^ª. Dr^ª. EDNA PEIXOTO DA ROCHA AMORIM
Presidente

RIO LARGO – AL
Fevereiro/2015

*A toda minha família, em especial a
minha querida mãe, por todo amor, carinho e
dedicação durante toda essa difícil jornada. A
minha namorada Tatiana Maciel da Silva, por
todo incentivo nos momentos mais difíceis.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu bom Deus, pai amoroso, cuidadoso e fiel. A Ele toda honra, glória e louvor, pois sem Ele, nada do que se fez poderia existir.

À Universidade Federal de Alagoas (UFAL), pela oportunidade de poder ter concluído mais essa grande fase em meus estudos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado.

À coordenação do curso de Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal), na pessoa da Prof. Dr. Vilma Marques Ferreira

À minha orientadora Prof. Dr. Edna Peixoto da Rocha Amorim, pessoa que tenho grande admiração e respeito, pela oportunidade, confiança, amizade, paciência e ensinamentos durante parte da minha graduação e todo o mestrado.

À Prof.Dr. Maria de Fátima Silva Muniz, por toda atenção e amizade durante esse tempo.

Aos Srs. Geraldo Lima e Maxwell Macco, secretários do curso de Mestrado por toda atenção, cordialidade e disponibilidade.

Aos meus colegas de laboratório Valdeir Nunes pela grande ajuda nos experimentos em campo, Nelson Augusto, Quitéria Cardoso, Izael Oliveira, Carlos Henrique, Erica Sáles, Gerlan Rodrigues, Samuel, Adriano Batista, Rosangela Lima, Leonardo Barbosa e Cris Gleice por todo companheirismo.

Aos meus amigos Djison Silvestre e Jakeline Maria, sendo está uma ponte para que o trabalho em campo fosse desenvolvido, na propriedade do Sr. George Lins, meu muito obrigado por toda ajuda.

À todos aqueles que fizeram parte direta ou indiretamente de toda a minha dissertação e ajudaram para que a mesma pudesse ser concluída, a todos vocês muito obrigado

RESUMO

O Brasil se destaca na produção de graviola, sendo um dos maiores produtores da fruta. O que tem limitado a produção é surgimento de doenças, sendo a podridão seca dos troncos e das raízes (*Lasiodiplodia theobromae*), uma das principais. Este trabalho objetiva avaliar a utilização de produtos naturais, *Trichoderma* sp. e fungicida, no controle da podridão seca do caule e raízes da gravioleira, como também o efeito destes no tratamento de sementes de graviola. Foram testados óleos de Citronela (*Cymbopogon nardus*), Hortelã pimenta (*Mentha piperita*) e Eucalipto lima (*Eucalyptus citriodora* Hooker M.), nas concentrações de 25, 50, 75 e 100 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$, e os extratos de vegetais de Alho (*Allium sativum* L), Cebola (*Allium cepa*) e Gengibre (*Zingiber officinale*), nas concentrações de 10, 20, 30 e 40%, assim como o fungicida Mancozeb, nas concentrações de 1, 2, 3 e 4 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Todos os compostos foram esterilizados em capela de fluxo laminar com luz UV por 30 minutos e adicionados ao meio BDA fundente para posterior medições do crescimento micelial do patógeno. A partir da escolha dos melhores tratamentos do teste *in vitro* realizaram-se o tratamento em mudas de graviola em intervalos de 7 dias, pulverizando-se 25 mL por planta e pincelando com pasta fúngica na concentração de 3 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ as plantas tratadas com fungicida. Para análise patológica das sementes foram coletadas 400 sementes de frutos sadios na área de plantio e submetidas aos tratamentos com e sem desinfestação com hipoclorito de sódio a 1%, óleos, extratos vegetais, fungicida e formaldeído a 5%. Para o experimento em campo foram utilizados os tratamentos compostos por Formaldeído a 5%, *Trichoderma* sp. (12, 24 e 36 g), Formaldeído 5% + 12g de *Trichoderma*, Formaldeído 5% + 24g de *Trichoderma*, Formaldeído 5% + 36g de *Trichoderma* e Mancozeb (3 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), usado como testemunha, para determinar os efeitos dos tratamentos na incidência da doença (% de plantas doentes). O extrato de alho a 10% controlou o crescimento *in vitro* de *L. theobromae*. Os extratos de cebola e gengibre não demonstraram capacidade no controle do fungos nas doses testadas. Os óleos de citronela, eucalipto e hortelã na menor dose (25 μL) controlaram o crescimento, sendo que citronela e eucalipto apresentaram fitotoxicidade às plantas. O tratamento de sementes de graviola com hipoclorito de sódio a 1% reduziu significativamente a incidência de fungos, assim como a microbiolização de sementes com *Trichoderma* sp. foi viável no controle de fungos endofíticos. A utilização de *Trichoderma* sp. e a utilização de formaldeído a 5% foram eficientes no controle da podridão seca em mudas de graviola, chegando a um percentual de 100% de controle.

Palavras-chaves: Fungo. Controle Alternativo. Plantas Medicinais. Químicos.

ABSTRACT

The production of soursop stands out in Brazil, country which is also one of the biggest soursop producers. But one of the main problems that have limited this production is the emergence of diseases as dry rot of trunks and roots (*Lasiodiplodia theobromae*). This study focuses on the analysis of the usage of natural products as *Trichoderma* sp. and fungicide to control dry rot of the stem and roots of soursoptree, as well as the effect of the treatment in soursop seeds. Some compounds as Citronella oils (*Cimbopogon nardus*), Peppermint (*Mentha piperita*) and Lemon Eucalyptus (*Eucalyptus citriodora* Hooker M.), at concentrations of 25, 50, 75 and 100 $\mu\text{L}\cdot\text{mL}^{-1}$, and vegetables extracts as Garlic (*Allium sativum* L), Onion (*Allium cepa*) and Ginger (*Zingiber officinale*), at concentrations of 10, 20, 30 and 40%, as well as Mancozeb, at concentrations of 1, 2, 3 and 4 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ were tested. All compounds were sterilized in a laminar flow cabinet under UV light for 30 minutes and added to PDA medium flux for subsequent measurements of mycelial growth of the pathogen. The best *in vitro* test treatments were chosen for this analysis and the vegetables extract samples and fungicide were performed in the treatment of seedlings at periods of 7 days, the plants treated with fungicide were sprayed up 25 mL per plant and brushed with fungispast at a concentration of 3 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. 400 seeds were collected of healthy fruits in a planting area for pathological analysis, they were submitted to treatments with and without disinfection with sodium hypochlorite 1%, oils, vegetables extracts, fungicide and 5% formaldehyde. For in field experiment were used treatments consisting of 5% formaldehyde, *Trichoderma* sp. (12, 24 and 36 g), 5% formaldehyde + *Trichoderma* 12g, 5% formaldehyde + *Trichoderma* 24g, formaldehyde 5% + Mancozeb 36g and *Trichoderma* (3 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), these were used to control and determine the effects of the treatments in disease incidence (% of diseased plants). The 10% garlic extract controlled the *in vitro* growth of *L. theobromae*. The onion and ginger extracts were not able to control the fungus at the tested dosage. Citronella oil, eucalyptus and peppermint at the lowest dosage (25 μL) controlled growth of *L. theobromae*, and the eucalyptus and citronella showed phytotoxicity to plants. The Treatment of soursop seeds with sodium hypochlorite 1% significantly reduced the incidence of fungus, as well as the seeds microbiolization with *Trichoderma* sp. was feasible to controlling endophytic fungi. The usage of *Trichoderma* sp. and formaldehyde at 5% were efficient in controlling the dry rot in soursop seedlings, reaching 100% of disease control.

Keywords: Fungus. Alternative Control. Medicinal Plants. Chemicals.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Muda de graviola submetidas ao teste de patogenicidade de *Lasiodiplodia theobromae*..... 27
- Figura 2- Tratamento de mudas de graviola com óleos, extrato vegetal (A) e fungicida (B).....29
- Figura 3- Sementes de graviola submetida a tratamentos alternativos.....31
- Figura 4- Colônia e conídios característicos do patógeno: crescimento micelial em meio de BDA (A), Esporos maduros (septados, escuros), esporos jovens (sem septos, hialinos) de *Lasiodiplodia theobromae* (B).....33
- Figura 5- Mudas de graviola apresentando sintomas da doença: mudas com sintomas de iniciais de podridão seca (A), região basal com escurecimento vascular (B e muda apresentando o sintoma da doença na região do apical da planta (C).....34
- Figura 6- Inibição micelial de *Lasiodiplodia theobromae* na presença de extratos vegetais. Extrato de Alho (A), Cebola (B), Gengibre (C) e Testemunha (D).....36
- Figura 7- Efeito de óleos essenciais sobre a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *L. theobromae*.....37
- Figura 8- Muda de graviola morta 20 dias após a inoculação com *L. theobromae*. Testemunha do experimento com sistema radicular totalmente apodrecido.....40
- Figura 9- Mudas de graviola submetidas a tratamentos alternativos e fungicida no controle de *L. theobromae*. Extrato de Alho (A), Óleo de Hortelã (B), Óleo de Citronela e Fungicida (D).....40

Figura 10- Efeito de formaldeído, <i>Trichoderma</i> sp. e mancozeb sobre a incidência natural da podridão seca da gravioleira (<i>Lasiodiplodia theobromae</i>) aos 15 dias, 30 dias e 45 dias após o plantio.....	46
Figura 11- Efeito de <i>Trichoderma</i> sp. e formaldeído sobre o controle da podridão seca da gravioleira (<i>Lasiodiplodia theobromae</i>) 45 dias após o plantio de mudas.....	47
Figura 12- Mudanças de graviola sadias aos 15 dias após o transplante (A), com sintomas de <i>L. theobromae</i> aos 30 dias após o transplante (B) e morta aos 45 dias após o transplante (C).....	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de <i>L. theobromae</i> em quatro concentrações de extrato aquoso de alho (EAA), extrato aquoso de gengibre (EAG), extrato aquoso de cebola (EAC), e a testemunha (TES).....	35
Tabela 2- Efeito do fungicida mancozeb sobre o crescimento micelial de <i>L. theobromae</i>	39
Tabela 3- Quadro de médias da incidência de fungos associados as sementes de graviola.....	42
Tabela 4- Análise patológica de sementes de graviola submetidas ou não ao tratamento com hipoclorito de sódio.....	42
Tabela 5- Porcentagem de incidência de fungos associados a sementes de graviola tratadas com produtos naturais e fungicidas.....	43
Tabela 6- Porcentagem de Incidência de gêneros e espécies de fungos em sementes de graviola, submetidas a tratamento com produtos naturais e químico.....	45

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1	Origem e distribuição geográfica da graviola (<i>Annona muricata</i> L.)	16
2.2	Fatores econômicos da cultura	16
2.3	Características do fungo <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	19
2.4	Controle da Podridão seca em graviola (<i>Annona muricata</i> L)	20
2.5	Controle Alternativo de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> em graviola	22
3	MATERIAIS E MÉTODOS	26
3.1	Obtenção do isolado de <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	26
3.2	Teste de patogenicidade do isolado	26
3.3	Inibição do crescimento micelial de <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	27
3.3.1	Obtenção dos óleos essenciais, extratos vegetais e fungicida	27
3.4	Efeito dos óleos essenciais, extratos vegetais e fungicida sobre o crescimento micelial de <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	28
3.5	Efeito de Óleos essenciais, extrato vegetal e fungicida sobre a podridão seca (<i>Lasiodiplodia theobromae</i>) em mudas de graviola (<i>Annona muricata</i> L.)	29
3.7	Uso do Controle alternativo no tratamento de sementes de graviola (<i>Annona muricata</i> L.)	31
3.8	Controle alternativo da podridão seca (<i>Lasiodiplodia theobromae</i>) em graviola	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
4.1	Identificação do patógeno	33
4.2	Teste de Patogenicidade	33
4.3	Efeito de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	34

4.4	Efeito de Óleos vegetais sobre o crescimento micelial de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> <i>in vitro</i>	37
4.5	Efeito do fungicida sobre o crescimento micelial de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> <i>in vitro</i>	38
4.6	Efeito de Óleos essências, extrato vegetal e fungicida contra <i>Lasiodiplodia theobromae</i> em mudas de graviola (<i>Annona muricata</i> L.).....	39
4.7	Análise patológica de sementes de graviola.....	41
4.8	Uso do Controle alternativo no tratamento de sementes de graviola (<i>Annona muricata</i> L.).....	43
4.9	Controle alternativo da podridão seca de caule e raiz provocada por <i>L. theobromae</i> em gravioleira.....	46
5	CONCLUSÃO	49
	REFERÊNCIAS	50

1 INTRODUÇÃO

A gravioleira (*Annona muricata* L) faz parte de um grupo de frutíferas de grande importância para a economia de diversas regiões da América do Sul, África e Ásia, sendo a espécie mais tropical da família das Anonáceas (RAMOS et al, 2001). No Brasil, esta família é representada por 29 gêneros e aproximadamente 386 espécies, sendo a atemóia (*Annona cherimola* Mill. X *Annona squamosa* L.), pinha (*Annona squamosa* L) e a própria gravioleira (*Annona muricata* L.) as principais espécies cultivadas (DONADIO et al, 1998; MAAS et al., 2012).

O Brasil se destaca na produção da fruta, tendo o estado de Alagoas como um dos principais representantes em termos de produção de anonáceas, sendo a Bahia o principal produtor, seguida de Pernambuco e Rio Grande do Norte, da cultura da pinha e da graviola, e São Paulo e Minas Gerais, com a atemóia (NOGUEIRA et al., 2005). O fruto é consumido de forma *in natura* e também é utilizado na indústria de sorvetes, sucos, doces e geleias, com grande destaque entre os frutos tropicais de maior interesse comercial.

O surgimento de pragas e doenças é um dos fatores que tem prejudicado a produção da cultura, devido principalmente a dificuldade no controle e eficiência dos produtos aplicados. A podridão seca dos troncos e das raízes é uma doença de grande importância. Seu agente causador, *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl, que até os anos 80 era considerado um patógeno que pudesse causar grandes danos às culturas, tem se tornando importante, causando prejuízos em diversas espécies vegetais de importância econômica (PEREIRA et al., 2006).

LOPEZ (2005) recomenda como medida de controle da doença corrigir a acidez do solo, evitar umidade excessiva, manter o colo da haste desenterrada, pincelar a haste com pasta bordalesa e remover os ramos e frutos infectados. No entanto essas medidas não vêm tendo eficácia e as perdas vem crescendo a cada dia.

Estudos que buscam novas formas de manejo, tais como o uso de produtos naturais e biocontroladores vem se tornando uma opção cada vez mais viável em aspectos econômicos e ambientais (BETTIOL, 1991).

A utilização de *Trichoderma* sp. no controle de fungos fitopatogênicos tem demonstrado respostas satisfatórias, decorrente da alta capacidade de reprodução, habilidade e eficiência na utilização de nutrientes, sobrevivência sob condições desfavoráveis, capacidade de modificar a rizosfera, alta agressividade e eficiência de controle, (BENITEZ, 2004), além de estimular os mecanismos de defesa da planta (DE MEYER et al, 1998; YEDIDIA et al, 2001).

Os extratos vegetais, óleos essenciais e outros derivados naturais apresentam-se como uma alternativa viável no controle de doenças de plantas, por possuírem diversas substâncias químicas em sua composição, muitas destas com potencial de ação fungicida ou fungistática, estudadas como fonte de matéria-prima na formulação de novos produtos (BERNARDO et al., 2002; GARCIA et al., 2012); além da vantagem de possuírem baixa toxidez e de apresentarem rápida degradação, tendo como resultado uma agricultura menos dependente de agrotóxico (GHINI e KIMATI, 2000).

Desta forma este trabalho teve por objetivo avaliar a utilização de óleos, extratos vegetais, *Trichoderma* sp. e fungicida no controle da podridão seca de caule raízes da gravioleira, causados por *Lasiodiplodia theobromae*, bem como seu efeito no tratamento de sementes de graviola.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Origem e distribuição geográfica da graviola (*Annona muricata* L.).

A gravioleira é uma planta originária das terras baixas da América tropical e vales peruanos, encontradas tanto na forma silvestre quanto cultivada, desde o nível do mar, até altitudes superiores a 1.100 m (MORTON, 1966¹, citado por FREITAS, 2012). Cultivada desde o sul do México até o Brasil, Ilhas do Pacífico, extremo sul da Florida. Encontra-se também distribuída desde o sudeste da China até a Austrália e nas terras baixas e quentes do Oeste da África (ESCOBAR e SÁNCHEZ, 1992; PINTO e SILVA, 1994; SACRAMENTO et al., 2009). As maiores áreas de plantios no mundo estão localizadas, por ordem de relevância, no México, Brasil, Venezuela e Costa Rica (SÃO JOSÉ et al, 2014).

No Brasil a planta chegou através dos colonizadores portugueses por volta do Século XVI, onde encontrou condições favoráveis para o seu desenvolvimento, passando a ser cultivada em pomares caseiros (RAMOS et al, 2001). É encontrada em quase todos os estados Brasileiros, com exceção dos estados da região sul, onde as baixas temperaturas causam a desidratação dos grãos de pólen, afetando a polinização das flores e, limitam a frutificação e a produtividade do pomar (PINTO et al, 2005; SACRAMENTO et al., 2009).

2.2 Fatores econômicos da cultura

“Até às últimas décadas do século XX, as anonáceas foram consideradas frutas de menor importância comercial no Brasil. Somente a partir da década de 1980, começou a surgir uma demanda de mercado para a pinha e a graviola” (LEMOS, 2014), tornando a fruta integrante de um grupo de frutíferas de importância econômica em diversos países, dentre eles a Venezuela, Colômbia,

MORTON, J.F. The Soursop of guanábana (*Annona muricata* L.) Proceedings of the Florida State Horticultural Society.v.79, p.355-366,1966.

Porto Rico, Costa Rica e México, (RAMOS et al., 2001).

A graviola despontou nos estados nordestinos como uma alternativa interessante para a pequena agroindústria de polpas congeladas e de outros produtos industrializados, tais como: sorvetes, sucos, néctares, bebidas lácteas, etc. Em 2006 foram contabilizados uma produção de 5,5 mil toneladas de frutos, onde 80% desse total foi produzido na região Nordeste (LEMOS, 2014), destacando-se em produção os estados da Bahia, Alagoas, Ceará, Paraíba e Pernambuco (LIMA, 2004). O cultivo expandiu-se também para outras regiões do Brasil, como o norte, destacando-se o estado do Pará, sendo a segunda região mais produtora, passando a ser uma opção interessante para inúmeros pequenos produtores (LEMOS, 2014).

Para o nordeste, o estado da Bahia é referência em produção, sendo o maior produtor. Com uma área de 1.300 ha, com grandes chances de ultrapassar os 1.500 ha após o georreferenciamento de todos os pomares do estado (LEMOS, 2014). Tal crescimento da cultura na região deve-se em parte por a cultura ser rentável, concorrendo com a cultura do cacau, que se encontra em declínio, e devido as condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento da planta. Em 2012 o estado chegou a produzir de 19 a 20 mil toneladas da fruta, gerando uma receita de R\$ 25 a 30 milhões, segundo a Agencia de Defesa Agropecuária da Bahia (ADAB). A produtividade média dos pomares em produção é de 5,6 t/ha (FREITAS, 2012), um aumento 350% quando comparado a comercialização de 2005 a 2011, informado pela Empresa Baiana de Alimentos (EBAL). O destino de grande parte dos frutos de graviola produzidos são destinados aos mercados de São Paulo, Rio de Janeiro, Salvador, Fortaleza, Recife e Brasília (LEMOS, 2014).

As graviolas do tipos “nordestina” ou “crioula” são as que predominam no nordeste, apresentando frutos com peso entre 1,5 e 3,0 Kg, com polpa mole, sabor doce a ligeira acidez (PINTO e SILVA, 1994). O estado de São Paulo, na região sudeste, é o principal centro de comercialização de graviola. Estimativas mostram que mais de 241 toneladas foram comercializadas entre os anos de 2007 a 2010, 296 toneladas em 2011 e 346 toneladas em 2012 (LEMOS, 2014).

Para haver boa produção é necessário cultivares com boa carga genética, adaptadas às condições de cada região. No estado de Alagoas as cultivares predominantes são dos tipos Morada, Lisa, Blanca e FAO. A cultivar Morada, uma da

mais cultivadas no Brasil, foi Introduzida no Estado através da Secretaria de Agricultura, destacando-se como uma das mais promissora (SANTOS, 2010). A Universidade Federal de Alagoas (UFAL), em parceria com a Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Alagoas (EMATER/AL) desenvolveram trabalhos de melhoramento da gravioleira 'Morada', por meio da seleção de materiais geneticamente superiores e através de clonagem, obteve-se assim, uma nova cultivar denominada 'Gigante das Alagoas', recomendada para o plantio no estado desde 1999, apresentando grande rendimento de polpa dado o tamanho dos frutos geralmente ultrapassar os 10 kg.

A graviola é a quinta polpa entre as mais vendidas no nordeste, representando um percentual de 12% das comercializações realizadas do ramo, ficando em volume atrás apenas das polpas de acerola, goiaba, maracujá e caju (LEMOS 2014). Sua polpa é branca, suculenta, agridoce, de cheiro e sabor agradáveis, contendo proteínas, cálcio, fósforo, ferro e vitaminas A, B, B2 e C (LOPEZ, 2005)

De acordo com Lopez (2005), a cultura da graviola é suscetível a diversas doenças, tais como a mancha zonada (*Sclerotium coffeicola*), a antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) e a podridão seca da haste ou cancro dos ramos (*Lasiodiplodia theobromae*). Junqueira et al. (2003) também relatam e descrevem várias doenças que podem ocorrer desde a sementeira até em pós-colheita.

A Mancha Zonada (*Sclerotium coffeicolum*), é uma doença que pode causar o desfolhamento total da gravioleira, principalmente se as condições de clima forem favoráveis, como altas temperatura e umidade relativa elevada (LOURD; ALVES, 1986). Trata-se de uma doença de importância secundária para a região nordeste, dado as condições de clima serem desfavoráveis ao fungo (JUNQUEIRA et al, 1996). A preocupação consiste na expansão da cultura para outros estados do Sudeste e Centro-Oeste do país, com grandes interesses na produção da fruta. Nesses estados a doença poderá tornar-se de importância econômica, devido as condições favoráveis de suas regiões. O fungo *Colletotrichum gloeosporioides* causa umas das doenças de maior importância para a gravioleira que é a Antracnose. A doença ataca flores, frutos, brotações novas, flores e frutos, independente do estágio de desenvolvimento da planta, mas é na fase de frutificação que causa mais prejuízos (JUNQUEIRA et al, 1996; JUNQUEIRA et al, 2003). Embora seja uma doença que

cause danos em todas as regiões produtoras de graviola, a antracnose causa perdas mais significativas nas regiões tropicais e subtropicais (AGRIOS, 2004). Os sintomas característicos da doença inicia-se com a morte das brotações novas ou de ramos e ponteiros, formando lesões necróticas e irregulares nas folhas e nas brotações novas (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014). Ocorre também tombamentos causados por *Rhizoctonia solani* ou *Fusarium* sp. principalmente em sementeiras ou plantas recém-germinadas. A doença é favorecida pelo excesso de irrigação ou umidade, sombreamento excessivo a alta densidade de plantas em sementeiras (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 2014).

Uma das dificuldades no controle das doenças da gravioleira está no fato de não existirem até o momento produtos registrados no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) para o controle de pragas e doenças em graviola (AGROFIT, 2011), sendo necessário o conhecimento de técnicas que previnam ou diminuam a incidência de doenças no plantio.

2.3 Características do fungo *Lasiodiplodia theobromae*

O fungo *L. theobromae* tem a capacidade de sobreviver na atmosfera, nos tecidos vegetais, vivos ou mortos, sendo disseminado pelo vento, sementes, água, animais, insetos e instrumentos de poda e pelo próprio homem (FREIRE et al., 2004). Vem se constituindo em um sério problema para os produtores em diversos agroecossistemas e tem sido descrito na literatura como como um fungo cosmopolita, polífago, oportunista, com pouca especialização patogênica, estando normalmente associado a processos patogênicos em plantas com deficiência nutricional, estressadas, com ferimentos naturais provocados por animais ou através de práticas culturais (TAVARES et al, 1994). Há relatos de problemas causados por esse patógeno em mais de 500 hospedeiros (PUNITHALINGAM, 1980⁴, citado por PEDRAZA, 2013): cacaueteiro (*Theobromae cacao* L.), acerola (*Malpighia emarginata*),

⁴PUNITHALINGAM, E. *Botryodiplodia theobromae*. CMI Description of pathogenic fungi and bacteriano. p. 519. 1980.

mangueira (*Mangifera indica* L.), coqueiro (*Cocos nucifera* L.), cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*) cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), gravioleira (*Annona muricata* L.), mamoneira (*Ricinus communis* L.), guaranazeiro (*Paullinia cupana* Ducke), pinheira (*Annona squamosa* L.), e outras (PEREIRA et al., 2006, RODRIGUES et al., 2004, FREIRE et al., 2004).

Diversos pesquisadores buscam entender os motivos que fizeram com que um fungo com pouca especialização patogênica passasse a ser problema em diversas culturas como as citadas anteriormente. Tavares (2002) acredita na hipótese de o fungo ter evoluído em patogenicidade em decorrência das pressões ambientais nas regiões semiáridas, onde as condições climáticas são favoráveis ao fungo.

Os sintomas mais característicos, variáveis em função da espécie vegetal parasitada, são de seca descendente (die back), cranco em ramos, caule e raízes, como também lesões em estacas, deterioração de sementes, podridão basal de frutos, podridão de tubérculos, raízes e frutos armazenados (KRANZ et al., 1977; TAVARES, 2002; RODRIGUES et al, 2003; FREIRE et al, 2004), podendo ser capaz de colonizar tecidos de plantas sem exibir sintomas de infecção, característica típica de comportamento endofítico, provocando o enfraquecimento do vegetal (MULLEN et al., 1991; MOHALI et al., 2005). Cardoso et al., (2006), relata a capacidade de *L. theobromae* sobreviver endofiticamente em sementes de graviola, fator que dificulta o controle da doença e serve de meio para dispersão do patógeno.

2.4 Controle da Podridão seca em graviola (*Annona muricata* L).

O controle das doenças causadas por *L. theobromae* tem sido bastante difícil, devido as características do fungo e a grande variedade de hospedeiros (CARDOSO et al., 2009). O controle químico por si só não oferece proteção, nem o controle curativo quando os danos são provenientes do ataque desse organismo, sendo, então, indicada a adoção de uma série de medidas adicionais (TAVARES, 1995). Como medidas de manejo, recomenda-se: evitar qualquer tipo de estresse à planta, causado por ataque de pragas, adubação inadequada ou déficit hídrico.

É recomendado a raspagem superficial da lesão enegrecida e pincelar com pasta à base de fungicidas plantas com características do ataque do patógeno, controle da adubação, visto que deficiência nutricional é um fator limitante a manifestação da doença em campo, controle de pragas como brocas-do-tronco, fruto e semente, realizar vistorias no pomar para verificar a presença de plantas com sintomas de morte de ramos, para serem eliminadas, retirando galhos secos, plantas mortas e frutos velhos, caídos ou remanescentes. Pulverização dos cortes com fungicidas à base de cobre e calda bordaleza a 1%, controlar a pressão do pulverizador para não lesionar os frutos e desinfecção de solos e replantio de mudas saudas (BATISTA et al., 2010; CARDOSO; FREIRE, 1998)

A desinfestação de solos e substratos pode ser feita mediante a aplicação de diferentes técnicas e métodos, a depender das condições de cada sistema de cultivo. Em função da sua atividade, os diferentes tratamentos desinfestantes podem ter uma ação biocida total ou biostática. As técnicas de desinfecção de solos podem se classificar como químicas ou não químicas existindo a possibilidade de combina-las com a finalidade de aproveitar e melhorar ao máximo os efeitos benéficos que estas oferecem e, em algumas ocasiões, a combinação de técnicas químicas com outros métodos de controle garantem um bom resultado (RODRÍGUEZ-KÁBANA e CALVET, 1994). Entre as técnicas empregadas, a desinfecção com fumigantes químicos e o uso de agentes biocontroladores são os mais utilizados.

De acordo com Alonso (2009) a produção de muitos cultivos depende do emprego de brometo de metila como fumigante para controlar um grande número de patógenos veiculados pelo solo, porém no Brasil foi proibido em 2005, por ser considerado potencialmente danoso ao meio ambiente. Em substituição ao brometo de metila, Gullino et al. (2003) citam como alternativa o uso de tetratiocarbamato de sodio e formaldeído, tanto em campo aberto como em cultivos protegidos.

A utilização de formaldeído, no controle de fungos de solo é uma pratica pouco encontrada na literatura, no entanto traz uma certa eficiência quando utilizada corretamente. O formol ou formaldeído é um produto químico que pode ser definido como sendo um aldeído fórmico existente na forma de gás solúvel em água. É ativado a uma umidade de 80 a 90%, possuindo ação antibacteriana, antiviral e antifúngica, além de não deixar resíduo e ser de baixo custo (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2003).

Valdebenito-Sanhueza (1988) encontrou bons resultados quando utilizou formaldeído como controle de *Armillaria* e outros patógenos radiculares em pomares de maçã e constatou que a eficácia desse fumigante pode ser melhorada com a aplicação associadas a outras medidas alternativas de controle.

A eficiência de produtos químicos no tratamento de patógeno que atuam no solo muitas vezes deixam a desejar, dado uma serie de interferências que podem ocorrer durante as aplicações dos produtos, tornando a pratica economicamente inviável, levando pesquisadores desenvolverem meios alternativos com produtos eficientes e acessíveis.

2.5 Controle alternativo de *Lasiodiplodia theobromae* em graviola

Existe uma preocupação muito grande atualmente com os impactos que as práticas agrícolas provocam no ambiente. Experiências relacionadas ao controle de pragas e de doenças indicam que as principais razões que levam à busca de alternativas quanto ao uso dos agrotóxicos são: redução de custo de produção final, problemas de saúde por parte dos agricultores, demanda por alimentos saudáveis, interesse da indústria e da comunidade (MENESES e GALVÃO, 2001).

Os patógenos de solo e do sistema radicular podem ser controlados pela ação de medidas que podem prevenir a formação do inóculo, destruição do inóculo presente em resíduos infestados ou redução da virulência do patógeno, afim de promover o desenvolvimento das plantas. A presença de microrganismos antagônicos e competidores aos patógenos pode garantir a boa sanidade do sistema radicular das plantas ou a manutenção da população patogênica em níveis não prejudiciais ao hospedeiro. A proteção biológica contra a infecção pode ser decorrente do estabelecimento de antagonistas que limitem a atuação dos patógenos, constituindo o caminho final para tornar um solo supressivo (HOMECHIN, 1991).

A ação desses organismos vem sendo comprovada por diversos pesquisadores (AMORIM E ITAMAR, 1999; VALDEBENITO-SANHUEZA,1988; HANADA et al.,2006; LUCON, 2008). A presença de *Trichoderma* spp. ao solo torna

os nutrientes mais solúveis, permitindo uma maior e mais rápida absorção pelas plantas, o que promove um maior crescimento do sistema radicular, conferindo à planta maior resistência (HOWELL, 2000). Esse tratamento tem sido empregado também em sementes, observando-se que isolados de *Trichoderma* spp. proporcionaram maior germinação de sementes, emergência e vigor em plântulas de berinjela, além do desenvolvimento de grãos e produção de frutos (MARTIN-CORDER, 1997; MELO, 1998; DINIZ et al., 2009). Esse tratamento é empregado no manejo integrado de doenças que visa erradicar ou reduzir o nível de infestação de fungos uma vez que *Trichoderma* possui a capacidade de sobreviver em ambientes desfavoráveis, inibindo patógenos de em diferentes condições de solo (VINALE et al., 2008).

Este fungo além de recolonizar rapidamente um solo fumigado apresenta outras características que o tornam efetivos no controle de doenças. Seu efeito pode estar associado principalmente aos efeitos diretos sobre os fitopatógenos, a sua capacidade de induzir resistência especialmente através do micoparasitismo, competição e antibiose gerada pela ação de enzimas como quitinases, glucanases e proteases capazes de inibir o crescimento micelial de muitos fungos fitopatogênicos (DENIS e WEBSTER, 1971; HARMAN et al., 2004).

É interessante estimular fungos antagonistas para não serem afetados ou que sejam menos afetados que os patógeno quando utilizado fungicida como forma de manejo. Então, eles podem dominar o solo tratado crescendo rapidamente na ausência de organismos competidores e, como resultado, ocorrer a exclusão do patógeno do solo (COOK, 1991).

A aplicação de formaldeído visa a eliminação do patógeno para posterior adição de microrganismos ao solo, visto que boa parte do sucesso obtido no controle de patógenos de solo reside na ação preventiva de proteção às plantas, restaurando a comunidade microbiana e recuperando a estrutura do solo (JUNIOR LOBO et al., 2009). Um desses fungos pertencem ao gênero *Trichoderma* spp.

BAKER e COOK (1984) sugeriram que antes de eliminar totalmente o patógeno, é necessário o seu enfraquecimento para torná-lo mais vulnerável ao antagonismo da microflora associada. Vários exemplos de controle integrado de patógenos são citados pela literatura. BLISS (1951)², citado por Baker e Cook (1984)

demonstrou a habilidade de *T. viride* em colonizar *Armillaria mellea* inoculada em segmentos de raízes e, artificialmente fumigados com dissulfito de carbono. O autor concluiu que *A. mellea* não foi eliminada diretamente pela ação fungicida do produto mas pelo aumento da população de *Trichoderma* spp. Quando o equilíbrio normal foi afetado pela fumigação, *Trichoderma* desenvolveu-se rapidamente, adiantando-se em relação ao mecanismo de proteção da *A. mellea*.

Outro exemplo de sucesso é o uso de *Trichoderma* para o controle de podridão de raízes de macieira, causada por *Phytophthora cactorum*. A técnica associa uma baixa dose de formaldeído (3%), esterilizante que não polui o solo, com propágulos de *T. viride*, organismo competitivo no solo e antagônico a *P. cactorum*. O antagonista foi aplicado sete dias após o tratamento com formaldeído (1L/cova), incorporando-se ao solo. O replantio com mudas sadias foi realizado sete a dez dias após a aplicação do *Trichoderma* (VALDEBENITO-SANHUEZA, 1991). Este trabalho visou substituir o uso de brometo de metila no replantio de macieiras em solo onde tinha havido morte de plantas causadas pelo ataque de *P. cactorum*. Formaldeído, também foi utilizado em doses sub-letais para o controle de *A. mellea* em pomares de maçã e pêra na China (CHANG et al., 1983³, citado por AUER, 2012), onde a população de *Trichoderma* foi estimulada e, por esse motivo, o controle do patógeno foi atingido. Gomes e Auer (2012) avaliando o uso de *Trichoderma viride* e formaldeído no controle da armilarirose em plantios jovens de *Pinus elliottii* var. *elliottii* verificaram uma menor incidência da doença na parcela onde aplicou-se apenas formaldeído (5,7 %), seguido pelos tratamentos apenas com antagonista (11,3 %), formaldeído mais antagonista (11,7 %) e testemunha (12,3 %).

Outra forma de controle para *L. theobromae* é a utilização de compostos orgânicos com atividade biológica secundárias, presentes em extratos brutos e óleos essenciais de plantas medicinais, aliado ao controle biológico e a indução de resistência (SCHWAN-ESTRADA et al, 2008). Tais substâncias têm demonstrado

²BLISS, D. E. **The destruction of *Armillaria mellea* in citrus soils.** Phytopathology, St. Paul, v. 41, p. 665-683, 1951.

³CHANG, L. W.; LIU, Q. F.; CAO, X. W. **Experiments on the control of the root rot disease (*Armillaria tabescens*) of fruit trees by using formaldehyde.** Acta Phytopathologica Sinica, v. 13. p. 37-43. 1983.

grande potencial no controle de fitopatógenos (CUNICO et al., 2003), sendo relatados como potentes fungicidas e inseticidas naturais (FRANCO; BETIOL, 2000). Isso deve-se ao fato de que óleos essenciais e extratos vegetais possuem uma misturas complexas de substâncias voláteis, com baixa massa molecular, líquidas, lipofílicas e odoríferas em sua maior parte, podendo agir diretamente sobre os fungos, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos (MORAIS, 2009; SCHAWN-ESTRADA; STANGARLIN, 2005).

A capacidade do óleo essencial ser hidrofóbico permite uma interação entre o óleo e os lipídeos da membrana celular, interferindo na sua permeabilidade e causando alterações em sua estrutura (Costa et al., 2011). Uma serie de óleos vem sendo testados no controle de fitopatógenos, com bons resultados. Óleos de citronela (*Cymbopogon nardus*), rico em geraniol e citronelal (TANU; ADHOLEYA, 2004), óleos de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*), pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L) e nim (*Azadirachta indica*), foram eficientes no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em *Tapeinochillus ananassae* (FURTADO, 2006). Os testes *in vivo*, realizados por Santos (2014) mostraram que a utilização preventiva dos óleos essenciais de alecrim pimenta (*Lippia sidoides* Cham), alfavaca-cravo (*Ocimum gratissimum*) e hortelã-japonesa (*Mentha arvensis* L) podem ser uma alternativa para o controle da podridão-seca da gravioleira.

Uma grande vantagem na utilização de produtos naturais e a capacidade destes poderem ser ativos contra um amplo espectro de espécies de microrganismos, porém as concentrações mínimas inibitórias podem variar (ANTUNES; CAVACOB, 2010), gerando a necessidade de novas pesquisas com doses ótimas para cada tipo de patógeno, de forma a não comprometerem o desenvolvimento da planta.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório e telado de Fitopatologia da Universidade Federal de Alagoas, no Centro de Ciências Agrárias (UFAL/CECA) e em área de cultivo convencional localizada na área rural do município de Maceió-AL.

3.1 Obtenção do isolado de *Lasiodiplodia theobromae*

O isolado de *L. theobromae* foi obtido a partir de amostras de plantas com sintomas da doença, coletadas em pomar comercial, mediante a retirada de pequenos pedaços de tecido da planta afetada, na região de transição do lenho doente e sadio das raízes e troncos de gravioleira. As amostras foram previamente desinfestadas em hipoclorito de sódio (2%), lavadas com água destilada e esterilizada (ADE), secas em papel de filtro, transferidas para placa de Petri contendo meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e incubadas a 28°C. Após três dias transferiu-se discos de meio de cultura contendo crescimento do patógeno para outra placa com o meio BDA, sendo cultivado durante sete dias a uma temperatura de aproximadamente 25°C e fotoperíodo de 12 horas. A identificação do isolado de *L. theobromae* foi feita mediante observação das estruturas de reprodução do patógeno em microscópio óptico.

3.2 Teste de patogenicidade do isolado

Para testar a patogenicidade do isolado utilizou-se mudas de graviola de aproximadamente 5 meses de idade, que foram perfuradas com vazador metálico de 5mm de diâmetro, para exposição do lenho a aproximadamente 3 cm da base da planta. Pequenos discos provenientes da cultura pura do fungo, contendo micélio do patógeno foram depositados na região perfurada. Como testemunha foram utilizados apenas discos de BDA (Figura 1).

Figura 1- Muda de graviola submetidas ao teste de patogenicidade de *Lasiodiplodia theobromae*. Foto: (SANTOS, D.V, 2014)



3.3 Inibição do crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae*

3.3.1 Obtenção dos óleos essenciais, extratos vegetais e fungicida

Os óleos de citronela (*Cymbopogon nardus*), hortelã pimenta (*Mentha piperita*) e eucalipto lima (*Eucalyptus citriodora* Hooker M.), foram adquiridos sob a forma comercial, produzido pela empresa Sucroquímica Indústria e Comércio Ltda. Os extratos vegetais aquosos de bulbo de Alho (*Allium sativum* L.), Cebola (*Allium cepa*) e rizoma de Gengibre (*Zingiber officinale*), obtidos após lavagem em água corrente e desinfestação em água sanitária a 1,0%, durante 10 minutos, a fim de eliminar microrganismos presentes na superfície dos mesmos. Os vegetais foram posteriormente lavados em ADE, para retirada do excesso de hipoclorito, e secos a temperatura ambiente em papel toalha. Procedeu-se a pesagem de 200g dos materiais, triturando-os em 300 mL de ADE, em liquidificador por um tempo de 10 minutos, em seguida o material foi filtrado em gaze dupla esterilizada. O fungicida utilizado teve como princípio ativo o mancozeb.

3.4 Efeito dos óleos essenciais, extratos vegetais e fungicida sobre o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae*.

Foram realizados três ensaios distintos com óleos essenciais, extratos vegetais e fungicida. Todos os tratamentos foram esterilizado as soluções prontas em capela de fluxo laminar com luz UV por 30 minutos, segundo metodologia descrita por Barguil et al. (2005) e adicionados ao meio BDA fundente (contendo amoxicilina), afim de se obterem concentrações de 25, 50, 75 e 100 $\mu\text{L. mL}^{-1}$ para os óleos essenciais, 10, 20, 30 e 40% para extratos vegetais, e 1, 2, 3 e 4g. L^{-1} do fungicida mancozeb. Discos de micélio de 5 mm de diâmetro, obtidos das bordas da colônia com 4 dias de idade foram transferidos para o centro das placas de cada tratamento e vedada com papel filme de PVC. A testemunha foi constituída pela deposição do disco de micélio em placa contendo apenas BDA.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado para óleos, extratos e fungicida, sendo o fungicida composto por 5 tratamentos e 4 repetições. Para óleos e extratos seguiu-se o esquema fatorial 3x4 mais testemunha, contendo quatro repetições.

Após o crescimento total da testemunha, que se deu no quinto dia, avaliou-se o crescimento radial das colônias, em dois eixos ortogonais, sendo calculada a média da porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) em relação à testemunha, proposta pela seguinte formula de Edginton et al (1971):

$$\text{P.I.C} = \frac{\text{crescimento da testemunha} - \text{crescimento do tratamento}}{\text{crescimento da testemunha}} \times 100$$

3.5 Efeito de Óleos essenciais, extrato vegetal e fungicida sobre a podridão seca (*Lasiodiplodia theobromae*) em mudas de graviola (*Annona muricata* L.)

O experimento foi conduzido em casa de vegetação a partir da escolha dos melhores tratamentos do teste *in vitro*. As mudas aparentemente saudáveis de graviola com aproximadamente 5 meses de idade foram adquiridas de viveiro.

Para inoculação, as mudas receberam duas perfurações com vazador metálico de 5mm de diâmetro, para exposição do lenho a aproximadamente 3 cm da base da planta e 2 cm do ápice, sendo depositados em ambas regiões perfuradas das plantas um pequeno disco contendo micélio do fungo. Todas as plantas foram inoculadas com o patógeno.

Após 10 dias da inoculação, as mudas foram tratadas em intervalos de sete dias com cinco aplicações dos produtos, utilizando-se 25 mL por planta, sendo pulverizadas até o ponto de escorrimento com o auxílio de um pulverizador manual de pressão para os óleos de citronela e eucalipto, extratos de alho, e para as plantas tratadas com fungicida mancozeb, foram feitas cirurgias no colo das plantas, aplicando o produto em consistência pastosa com auxílio de um pincel. (Figura 2).

Figura 2- Tratamento de mudas de graviola com óleos, extrato vegetal (A) e fungicida (B). Foto: (SANTOS, D.V, 2014).



Após 35 dias avaliou-se o experimento para determinar a percentagem de controle da doença. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, contendo 5 tratamentos e 4 repetições, totalizando 20 parcelas.

3.6 Análise patológica das sementes de graviola.

A avaliação da qualidade sanitária das sementes de graviola se deu através do testes de sanidade de sementes conforme metodologia do “blotter test” (NEERGAARD, 1979). Foram coletadas de frutos sadios 400 sementes obtidas no pomar do produtor. Deste total, 200 sementes foram desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio (água sanitária) a 1% por três minutos, lavadas com ADE (água destilada esterilizada) e secas ao ar livre. Na outra metade das sementes não foi aplicado nenhum tratamento de desinfestação.

As sementes foram dispostas individualmente sobre uma tripla camada de papel de filtro umedecido com ADE, distanciadas 1-2 cm uma das outras, em caixas do tipo Gerbox, com 20 sementes cada. As caixas permaneceram por sete dias em câmara, tipo BOD, regulada à temperatura de 25°C, em regime alternado de 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Sete dias após iniciou-se a avaliação do teste de sanidade e a identificação dos fungos presentes nas sementes, com auxílio de um microscópio estereoscópico ótico. Os resultados foram expressos em porcentagem de ocorrência, através do número de colônias por sementes de cada fungo, sendo calculada pela seguinte formula:

$$P = \frac{\text{Número de sementes contaminadas}}{\text{Número total de sementes da amostra}} \times 100$$

3.7 Uso do Controle alternativo no tratamento de sementes de graviola (*Annona muricata* L.)

Com o intuito de verificar o efeito dos tratamentos com óleos, extratos vegetais e fungicida, sobre os patógenos endofíticos presentes nas sementes de graviola, procedeu-se a realização do ensaio (Figura 3), organizado em delineamento inteiramente casualizado, contendo 8 tratamentos e 4 repetições, totalizando de 32 parcelas.

Os óleos essenciais, extratos vegetais e fungicida foram escolhidos como resultado dos melhores tratamentos dos experimentos *in vitro*. O tratamento com *Trichoderma* sp, obtido na empresa Biotec, na forma de arroz colonizado pelo fungo, selecionado do experimento em campo foram: *Trichoderma* 12g; *Trichoderma* 36g; mancozeb (3g.L^{-1}), formaldeído (5%); extrato de alho (10%), óleos de hortelã ($25\mu\text{L}$), óleo de citronela ($25\mu\text{L}$) e testemunha contendo ADE. Não foi aplicado tratamento de desinfestação nas sementes.

Figura 3- Sementes de graviola submetida a tratamentos alternativos. Foto: (SANTOS, D.V, 2014)



As sementes foram dispostas, conforme metodologia descrita por (NEERGAARD, 1979). As caixas permaneceram por sete dias em câmara, tipo BOD, regulada à temperatura de 25°C , em regime de fotoperíodo de 12 horas. Após sete

dias iniciou-se a avaliação do teste de sanidade e a identificação dos fungos presentes nas sementes, com auxílio de um microscópio estereoscópico ótico, sendo os resultados expressos em porcentagem de ocorrência, através do número sementes contaminadas, sendo calculada pela fórmula do experimento anterior.

3.8 Controle alternativo da podridão seca (*Lasiodiplodia theobromae*) em graviola.

O experimento foi instalado em pomar comercial de gravioleira, naturalmente infestado com *Lasiodiplodia theobromae* em zona rural do município de Maceió.

Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados com oito tratamentos e seis repetições, num total de 48 parcelas. As covas com dimensões de 40x40x40 foram abertas nos locais onde as plantas haviam morrido com sintomas da doença.

Para montagem do ensaio utilizou-se a metodologia adaptada de Valdebenito-Sanhueza (1991) aplicando-se, por meio de rega, 1 L de formaldeído a 5%, (50 mL de formaldeído e 950 mL de água potável) três dias antes da aplicação do inoculo de *Trichoderma* sp. Todas as covas foram reviradas duas vezes ao dia durante 3 dias, sendo que as com formaldeído foram cobertas com lona plástica de cor preta para aumento da temperatura. Os tratamentos foram os seguintes: formaldeído a 5%, *Trichoderma* sp. (12, 24 e 36 g), formaldeído 5% + 12g de *Trichoderma*, Formaldeído 5% + 24g de *Trichoderma*, formaldeído 5% + 36g de *Trichoderma* e mancozeb (3g.L⁻¹), usado como testemunha. A aplicação de *Trichoderma*, quando associada ao formaldeído, só foi realizada três dias após a aplicação do formaldeído, e 48 horas após a aplicação de *Trichoderma* procedeu-se o transplante das mudas assintomáticas de graviola com aproximadamente 5 meses de idade em espaçamento do tipo triangular de 5x5, que foram submetidas a irrigação do tipo micro aspersão.

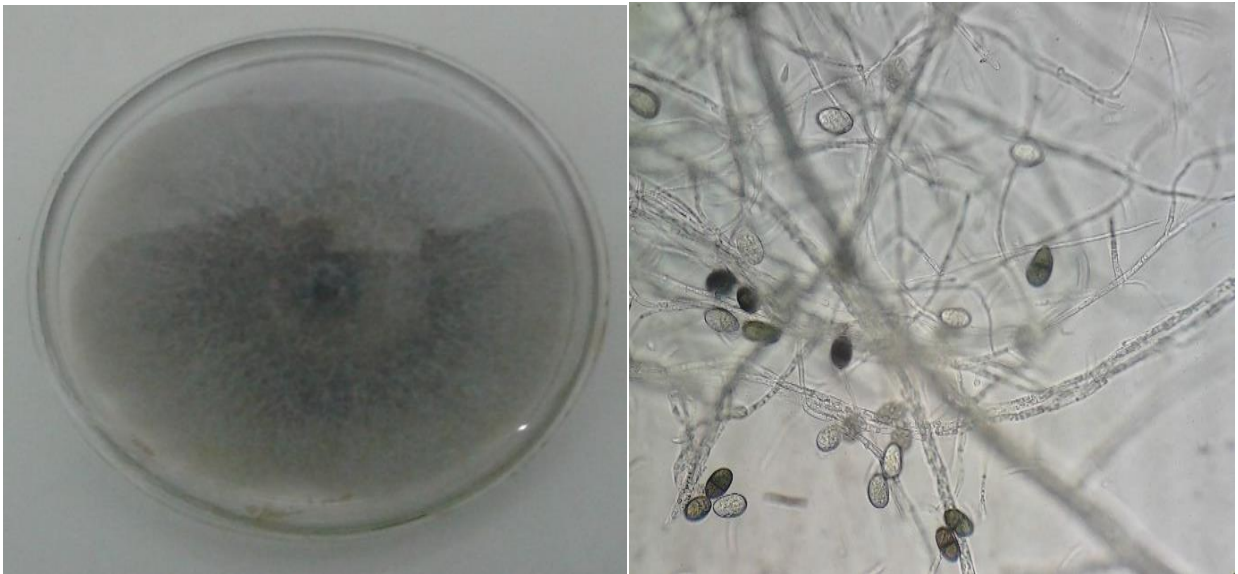
Determinou-se a incidência da doença (% de plantas doentes) aos 15, 30 e 45 dias após os tratamentos. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey (<0,1) de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Identificação do patógeno

O isolado do fungo formou colônias circulares de aspecto flocoso, com bordos regulares, crescimento radial em ramificações, com coloração esbranquiçada inicialmente e escuras após sete dias de incubação. Microscopicamente foram visualizados conídios hialinos asseptados quando jovens e escuros com um septo, quando maduros, característicos de *L. theobromae*. (Figura 4).

Figura 4- Colônia e conídios característicos do patógeno: crescimento micelial em meio de BDA (A); Esporos maduros (septados, escuros), esporos jovens (sem septos, hialinos) de *Lasiodiplodia theobromae* (B). Foto: (SANTOS, D.V, 2014)



4.2 Teste de Patogenicidade

O teste de patogenicidade comprovou a eficiência do isolado de *L. theobromae* em provocar a podridão seca nas mudas de graviola. As plantas inoculadas com o patógeno apresentaram os sintomas característicos com 20 dias após a inoculação (Figura 5). O patógeno foi reisolado em meio BDA.

Figura 5- Mudanças de graviola apresentando sintomas da doença: mudas com sintomas iniciais de podridão seca (A), região basal com escurecimento vascular (B e muda apresentando o sintoma da doença na região do apical da planta (C). Foto: (SANTOS, D.V, 2014)



4.3 Efeito de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* L.

A Tabela 1 apresenta os resultados do efeito dos extratos vegetais aquosos testados sobre a inibição do crescimento micelial de *L. theobromae*. O extrato aquoso de alho demonstrou-se mais eficiente em relação aos outros tratamentos, sendo capaz de controlar em 100% o crescimento do fungo em todas as concentrações analisadas.

Para o extrato de gengibre, as melhores concentrações foram 30 e 40%, controlando em 15 e 9% respectivamente, o desenvolvimento do patógeno.

O extrato de cebola não apresentou efeito significativo. Houve uma pequena inibição de crescimento micelial do patógeno, 4%, quando submetida à concentração de 40%, sendo as demais semelhantes a testemunha.

A utilização de extrato de alho no controle de fitopatógenos tem ganho destaque, uma vez que estudos indicam que em sua composição fotoquímica ativa, há mais de 100 compostos biologicamente ativos, como compostos sulfurados, a alicina, o ajoeno, o tiosulfatos e compostos organosulfurados (LEDEZMA; APITZ-CASTRO, 2006).

Tabela 1- Porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *L. theobromae* em quatro concentrações de extrato aquoso de alho (EAA), extrato aquoso de gengibre (EAG), extrato aquoso de cebola (EAC), e a testemunha (TES)

Tratamentos	(%) Concentrações			
	10	20	30	40
EAA	100.00 b	100.00 b	100.00 b	100.00 b
EAG	0.00 a	0.00 a	15.27 a	9.02 a
EAC	0.00 a	0.00 a	0.00 a	4.00 a
TES	0.00 a	0.00 a	0.00 a	0.00 a
CV:	17.83			

* Nas colunas, valores médios seguidos por mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Silva (2007), obteve entre 40 e 70% de inibição do crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubence*, trabalhando com doses de 5 e 10% de extrato de alho. Leite et al, (2012) obtiveram um controle de 100% do crescimento de *Elsinoe ampelina* Shear, na cultura da uva, trabalhando com doses de 30 mL.L⁻¹, concordando com os resultados obtidos neste trabalho. Lemar et al. (2005) observaram a ocorrência de estresse oxidativo em células de *Candida albicans*, o que levou à inibição do crescimento das colônias do fungo e a desestruturação dos seus componentes celulares quando aplicado extrato de alho. Nascimento et al. (2008) também encontraram bons resultados quanto a eficiência do extrato de alho sobre a redução da severidade da podridão peduncular na cultura do mamoeiro causada por *L. theobromae*, sendo mais eficiente até que o tratamento com o fungicida mancozeb. Autores como Venturoso et al. (2011) verificaram que meios de cultura contendo os extratos de alho (*Allium sativum* L.), em concentração de 20%, foram promissores sobre a redução do crescimento micelial dos fitopatógenos *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Cercospora kikuchii*, *Colletotrichum* sp., *Fusarium solani* e *Phomopsis* sp.

Os resultados obtidos com o uso do extrato de gengibre divergem dos resultados observados por outros pesquisadores em trabalhos realizados em outros patossistemas: Rodrigues et al, (2007), evidenciaram um feito significativo na utilização de extrato de gengibre no controle de *Slerotinea sclerotiorum*, em concentrações de 25%, controlando 92,5% do crescimento micelial. Pedroso et al

(2009), estudando os efeitos de extrato aquoso de gengibre, obtiveram controle de 40% de controle no crescimento *in vitro* de *Alternaria solani*.

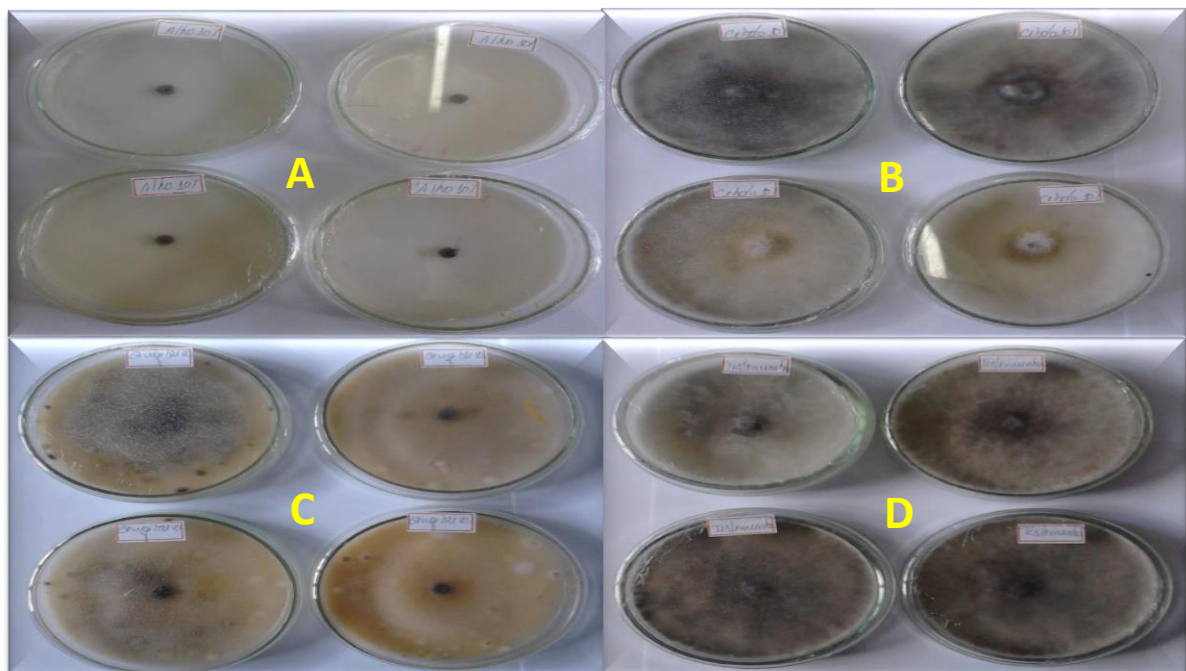
Essa baixa eficiência observada no controle de *L. theobromae in vitro* quando utilizado o extrato de gengibre, pode estar ligado a ineficiência dos composto presente no extrato, podendo ter sido causado pelo tempo de exposição do produto ao ambiente (tempo de prateleira), podendo haver perda de compostos, com baixo conteúdo de substância tóxicas ao fungo.

Com relação ao extrato de cebola, os resultados obtidos nesse trabalho chegam bem próximos dos observador por Takeshita et al. (2014), onde obtiveram um percentual de inibição do crescimento micelial de 5,90%, para o extrato na concentração de 200 ppm, no controle de *Guignardia citricarpa*, na cultura da laranja.

Possivelmente a redução da capacidade de inibição de tais extratos pode ser atribuída à volatilização dos constituintes, instabilidade na presença de ar, luz, calor, umidade, causando mudanças no interior das placas de Petri (SIMÕES; SPITZER, 2000).

As atividades antifúngicas dos extratos vegetais utilizado neste experimento, evidenciam uma não significância para a interação entre extratos/concentrações, sendo o efeito dos extratos independente das concentrações testadas sobre o crescimento micelial de *L. theobromae* (Figura 6.)

Figura 6- Inibição micelial de *Lasiodiplodia theobromae* na presença de extratos vegetais. Extrato de Alho (A), Cebola (B), Gengibre (C) e Testemunha (D). Foto (SANTOS, D.V, 2014)



4.4 Efeito de óleos vegetais sobre o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* L. *in vitro*.

A Figura 7 apresenta o resultado do efeito de óleos essenciais sobre a inibição do crescimento de *L. theobromae*.

O óleo de hortelã pimenta, eucalipto lima e citronela diferiram da testemunha, independente das concentrações analisadas, porém não diferiram entre si, inibindo em 100% o crescimento micelial do patógeno *in vitro*.

Figura 7- Efeito de óleos essenciais sobre a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de *L. theobromae*. Fonte: (SANTOS, D.V, 2014)



Há trabalhos na literatura com resultados satisfatórios quanto a utilização de óleos essenciais na inibição do crescimento micelial de diversos patógenos. Seixas et al (2011), trabalhando com doses de 15, 20 e 25 µL.mL⁻¹ de óleo de citronela, conseguiram 100% de inibição de crescimento micelial de *Fusarium subglutinans*. Medice et al (2007), verificaram um controle de 100% na germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, agente causal da ferrugem asiática da soja, utilizando óleo de citronela. Sarmiento-Brum et al (2013) obtiveram excelentes resultados no controle do fungo *Colletotrichum graminicola* na cultura do sorgo.

Santos (2014), também obteve 100% de controle do crescimento micelial *in vitro* de *Phomopsis sojae* com a utilização desse óleo, concordando com os resultados deste experimento.

Castro et al. (2007) observaram que os constituintes principais deste óleo foram citronelal e geraniol, este último com comprovada atividade antibacteriana. Fato este visto por Costa et al. (2008) através da atividade antibacteriana sobre isolados de *Erwinia carotovora*, obtidos de plantas de repolho e alface com sintomas característicos de podridão mole.

Resultados promissores foram encontrados por Dias-Areira et al (2010), com a utilização de óleo de eucalipto no controle de *Colletotrichum acutatum* na cultura do morangueiro, assim como por Bonaldo et al (2007), que observaram 100% de inibição do crescimento micelial dos fungos testados, utilizando alíquotas de 20, 40, 100, 500 e 1000 μL : *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora* sp, *Alternaria alternata* e *Colletotrichum sublineolum* e de 90% para *Rhizoctonia. solani*.

Trabalhando com óleo essencial de hortelã-pimenta, Sarmento-Brum et al (2013) obtiveram reduções no crescimento micelial de *Colletotrichum graminicola* de 7,37 $\text{mm}\cdot\text{dia}^{-1}$ (testemunha) para 6,25 e 1,37 $\text{mm}\cdot\text{dia}^{-1}$, em concentrações 0,50 e 0,75 $\mu\text{L mL}^{-1}$, respectivamente. A eficiência de óleos essenciais, estão relacionadas a característica lipofítica das suas propriedades antimicrobianas, podendo ultrapassar a parede celular e membrana plasmática, podendo afetar suas estruturas, o que pode ser eficaz no controle de fitopatógenos (BAKKALI et al., 2008; SARMENTO-BRUM et al. 2013).

4.5 Efeito do fungicida sobre o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* L. *in vitro*.

A Tabela 2 apresenta os resultados do efeito do fungicida mancozeb sobre o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae*.

Todas as doses analisadas diferiram da testemunha, sendo que 1 e 2 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ do fungicida não apresentaram diferenças estatísticas entre si, sendo a porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) de 70,22 e 80,22%, respectivamente. As doses 3 e 4 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, foram as mais eficientes, proporcionando inibição *in vitro* de 88,44 e 94,44%, respectivamente.

Tabela 2- Efeito de doses de fungicida sobre a Porcentagem de Inibição de Crescimento Micelial (PIC) de *L. theobromae*.

Tratamentos	PIC (%)
Mancozeb 1g.L ⁻¹	70.22 b
Mancozeb 2g.L ⁻¹	80.22 b
Mancozeb 3g.L ⁻¹	84.44 a
Mancozeb 4g.L ⁻¹	94.44 a
Testemunha	0.000 c
CV:	16.68

As médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si. Foi aplicado o Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Diversos trabalhos tem relatado a eficiência do produto no controle de patógenos. Soriano (2011), obteve 100% de controle sobre o crescimento micelial *in vitro* de *Phytophthora* sp, na mínima dose testada de 2,5 g.L⁻¹. Moreira e May-de-Mio (2009), obtiveram 100% de controle do crescimento micelial de *Monilinia fructicola* utilizando o fungicida mancozeb na dosagem de 100 mg.L⁻¹, na cultura do pessegueiro. Tavares et al. (1994) testando fungicidas para o controle de *L. theobromae* “*in vitro*”, obteve resultados expressivos quando utilizou doses de metalaxil + mancozeb. O mesmo autor constatou que o mancozeb não foi eficaz no controle *in vitro* de *L. theobromae*. Bizi (2006) avaliando a ação do fungicida mancozeb, observou que o mesmo não apresentou eficácia no controle do fungo *Botrytis cinerea* (Pers). Fr. em mudas de *Eucalyptus dunnii*. De modo geral o fungicida é bastante eficiente, desde que utilizado no modo e para o agente correto.

4.6 Efeito de óleos essenciais, extrato vegetal e fungicida no controle de *Lasiodiplodia theobromae* em mudas de gravioleira (*Annona muricata* L.)

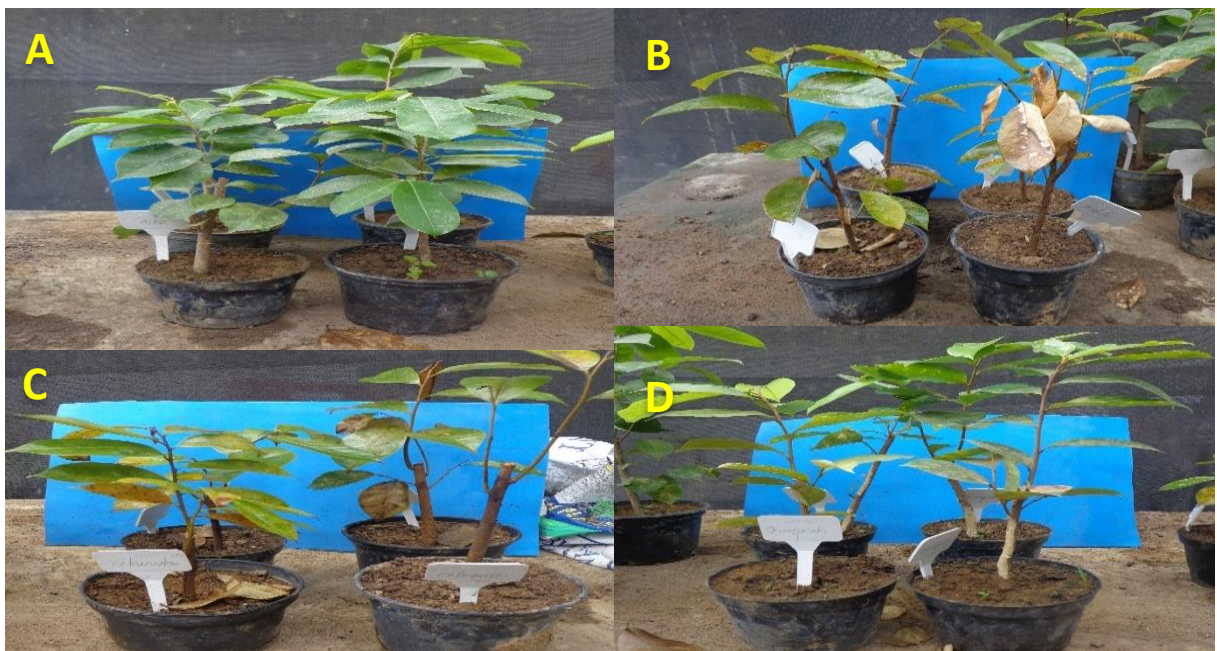
Os produtos naturais aplicados *in vivo* proporcionaram boas respostas no controle da podridão seca da gravioleira. Todos os tratamentos impediram o desenvolvimento do fungo *L. theobromae*, diferente da testemunha, que 10 dias após a inoculação as plantas começaram apresentar os primeiros sintomas da doença, morrendo completamente aos 20 dias após a inoculação. (Figura 8).

Figura 8- Muda de gravioleira morta 20 dias após a inoculação com *L. theobromae*. Testemunha do experimento com sistema radicular totalmente apodrecido. Foto: (SANTOS, D.V, 2014)



De uma maneira geral a utilização do óleo de hortelã e citronela provocaram efeito fitotóxicos às plantas na concentração testada ($25 \mu\text{L}\cdot\text{ml}^{-1}$). A aplicação de óleo de citronela provocaram de forma menos acentuadas a queima das folhas, quando comparado ao óleo de hortelã (Figura 9).

Figura 9- Mudanças de gravioleira submetidas a tratamentos alternativos e fungicida no controle de *L. theobromae*. Extrato de Alho (A), Óleo de Hortelã (B), Óleo de Citronela e Fungicida (D). Foto: (SANTOS, D.V, 2014)



A aplicação de extrato de alho (10%) e de fungicida foram os melhores tratamentos, controlando o fungo sem apresentarem efeitos fitotóxicos.

O efeito fitotóxico de óleos essenciais foram observados também por outros pesquisadores, o que corrobora com os resultados encontrados neste trabalho: Sarmiento-Brum et al., (2014), verificaram o efeito fitotóxico do óleo essencial de hortelã aplicado em plantas de melancia e Brito et al., (2012) também observaram problemas de fitotoxidez ao tratar plantas de milho com óleo de citronela. Dequech et al. (2008) observaram necrose e descoloração de folhas de feijão-de-vagem quando tratadas com óleo comercial de nim.

Óleos essenciais botânicos ou seus constituintes, apresentam alta eficácia, no controle de fitopatógenos, contudo, deve-se ter cuidado ao utiliza-los, pois podem ser também os mais fitotóxicos (SMAN, 2000; SOUZA et al., 2007; VENTUROSO et al., 2011), devendo-se observar as concentrações utilizadas, afim de se obter resultados satisfatórios.

Com relação a eficiência do extrato de alho, Leite et al., (2012), trabalhando em condições de campo, verificaram a eficiência do extrato bruto de alho sobre a antracnose da videira, sendo as concentrações de 20 e 25 mL.L⁻¹ as mais eficientes, inibindo em 83,59 e 72,28%, respectivamente, a severidade da doença.

4.7 Análise patológica de sementes de graviola

A Tabela 3 apresenta quadro de média de incidência de fungos associados as sementes de graviola submetidas ou não a desinfestação com hipoclorito de sódio a 1%.

A incidência de fungos nas sementes desinfestadas diferiu significativamente das sementes não desinfestadas. Nas sementes submetidas a desinfestação com hipoclorito de sódio a porcentagem de sementes sadias foram de 65,5%, enquanto que nas sementes não desinfestadas a porcentagem de sementes sadia foi de 43%, uma redução da infestação de 22,5% na incidência de fungos.

Tabela 3- Quadro de médias da incidência de fungos associados as sementes de graviola.

Tratamentos	Médias de sementes contaminadas
Sementes sem desinfestação	3.33894 a
Sementes desinfestadas	2.60723 b

Foram identificados os seguintes gêneros de fungos associados as sementes de graviola: *Penicillium* sp, *Fusarium* sp, *Lasiodiplodia theobromae* e *Rhizopus* sp. Esses gêneros foram encontrados tanto nas sementes que receberam o tratamento com hipoclorito de sódio a 1%, quanto as que não receberam tratamento (Tabela 4).

Tabela 4- Análise patológica de sementes de graviola submetidas ou não ao tratamento com hipoclorito de sódio.

Gêneros	Sementes infectadas (Nº)
Sementes tratadas com hipoclorito de sódio	
<i>Penicillium</i> sp	2
<i>Fusarium</i> sp	45
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	10
<i>Rhizopus</i> sp	12
Sementes não tratadas com hipoclorito de sódio	
<i>Penicillium</i> sp	18
<i>Fusarium</i> sp	62
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	10
<i>Rhizopus</i> sp	24

O tratamento das sementes com hipoclorito de sódio a 1% reduziu significativamente a quantidade de fungos presentes nas sementes na grande maioria das sementes. Essa redução foi verificada para os fungos *Penicillium* sp, *Fusarium* sp, e *Rhizopus* sp. Não houve redução em sementes contaminadas com *L. theobromae*, possivelmente devido o impedimento físico do tegumento da própria semente ou a baixa concentração utilizada do produto. Alguns trabalhos embasam a utilização de hipoclorito de sódio no tratamento de sementes. O tratamento com

hipoclorito propiciou a redução da recuperação de *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e de *Rhizopus* spp., em sementes de amendoim, pelo método de incubação em BDA (ITO et al.,1992), sendo recomendado em testes de sanidade de sementes de amendoim, na concentração de 1%, por três minutos (BRASIL, 1992). Couto et al (2004), ao analisarem sementes de mogno (*Swietenia macrophylla*), submetida a desinfestação com hipoclorito de sódio, verificaram 89% de contaminação quando as sementes não foram submetidas ao tratamento. O tratamento de sementes de jabuticabeira foi eficiente quando desinfestadas com 5% de cloro ativo (PICOLOTTO et al., 2007). Zorato et al. (2001), conseguiu reduzir a incidência de *Aspergillus flavus* em sementes de soja a partir da concentração de 3% de hipoclorito de sódio por cinco minutos, o que corrobora com os resultados observados nesse trabalho

4.8 Uso do Controle alternativo no tratamento de sementes de graviola (*Annona muricata* L.)

Os tratamentos das sementes de graviola com *Trichoderma* 12g e *Trichoderma* 36g, apresentaram menores incidências de fungos quando comparado a testemunha, com percentuais de 26,6% e 26,9%, respectivamente, não diferindo entre si estatisticamente (Tabela 5).

Tabela 5- Porcentagem de incidência de fungos associados a sementes de graviola tratadas com produtos naturais e fungicidas.

Tratamentos	Incidência (%)	Controle (%)
Testemunha	3.16228 a	0,00
Hortelã 25 µL.mL ⁻¹	3.16228 a	0,00
Alho 10%	3.07882 ab	2,85
Citronela 25 µL.mL ⁻¹	2.90911 ab	8,22
Formaldeído 5%	2.86855 ab	9,50
Mancozeb 3 g.L ⁻¹	2.45682 ab	22,50
<i>Trichoderma</i> 12g	2.32678 b	26,60
<i>Trichoderma</i> 36g	2.31948 b	26,90
CV:	12.69 %	

Os tratamentos com o fungicida mancozeb, formaldeído 5%, extrato de alho e óleo de citronela, apresentaram resultados semelhante aos melhores tratamentos, porém, estes não diferiram da testemunha. O óleo de hortelã não controlou a incidência de patógenos.

Carvalho et al (2011), trabalhando com o tratamento de sementes de feijoeiro com *Trichoderma harzianum*, verificaram uma inibição próxima de 50% da incidência de *Fusarium oxysporium*, Luz (1998), avaliando o efeito da microbiolização de sementes de trigo, demonstrou que as sementes microbiolizadas apresentaram uma eficiência superior (5-9%) ao tratamento com fungicida sintético no controle de *Bipolaris sorokiniana*, *Pyricularia oryzae*, *Drechslera tritici-repentis* e *Stagonospora nodorum*, concordando com os resultados obtidos neste experimento que apresentou uma eficiência de aproximadamente 4% superior ao tratamento com fungicida.

Quanto a baixa eficiência de controle apresentada pelos produtos naturais de origem vegetal neste trabalho, uma das hipóteses é a baixa concentração utilizada. Mieth (2007), testando diferentes concentrações de extrato de hortelã (*Mentha piperita*), com concentração a 20 e 30%, reduziram a incidência da maioria dos patógenos associados às sementes de cedro (*Cedrella fissilis*). Cruz et al. (1998) utilizando extrato aquoso de lavanda (*Lavandula officinalis*), manjerição (*Ocimum basilicum*), capim-limão (*Cymbopogon citratus*) e eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) verificaram significativa redução na incidência de *Penicillium* sp. e de *Aspergillus* sp em sementes de soja.

Os gêneros e espécies de fungos detectados nas sementes de graviola submetidas aos tratamentos com produtos naturais e fungicidas se encontram na Tabela 6. Sendo que a maior quantidade de fungos observados foram do gênero *Rhizopus* sp, encontrado em 40% do total das sementes infestadas, seguido de *Penicillium* sp. com 20% e *L. theobromae* e *Fusarium solani*, ambos com 10,31% de incidência.

As sementes de graviola tratadas com 12 e 36g de *Trichoderma* sp. não apresentaram incidência de *Penicillium* sp. e tiveram uma incidência de 15% e 12,5% de *L. theobromae* e de 7,5% e 5% de incidência de *Fusarium solani*, respectivamente. Um dos motivos para que os tratamentos com *Trichoderma* 12 e 36g não terem reduzido a incidência de *L. theobromae*, como nos outros tratamentos pode estar

ligado ao fato de o fungo não conseguir penetrar as sementes, competindo apenas superficialmente com o patógeno. O tratamento das sementes com o fungicida mancozeb proporcionou incidências de 10% de *Penicillium* sp, 5% de *L. theobromae* e 7,5% de *F. solani*. Já as sementes tratadas com formaldeído não apresentaram incidência de *L. theobromae* e tiveram incidência de 35% *Penicillium* sp. e 5% *F. solani*. As semente tratadas com extrato de alho não apresentaram incidência de *F. solani* e tiveram incidências de 47,5% de *Penicillium* sp. e 7,5% de *L. theobromae*. Sementes tratadas com o óleo de citronela apresentaram incidências de *Penicillium* sp., *L. theobromae* e *F. solani* em 17,5%, 7,50% e 15%, respectivamente. O óleo de hortelã não diferiu da testemunha e nenhum tratamento foi capaz de reduzir a incidência de *Rhizopus* sp.

Tabela 6- Quantidade e porcentagem de Incidência de gêneros e espécies de fungos em sementes de graviola, submetidas a tratamento com produtos naturais e químico.

Tratamentos	<i>Penicillium</i> sp.		<i>L. theobromae</i>		<i>Fusarium solani</i>		<i>Rhizopus</i> sp		Total
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%	%
T12	0	0,00	6	15,00	3	7,50	14	35,00	57,50
Man	4	10,00	2	5,00	3	7,50	16	40,00	62,50
T36	0	0,00	5	12,50	2	5,00	15	37,50	55,00
For	14	35,00	0	0,00	2	5,00	17	42,50	82,50
Alh	19	47,00	3	7,50	0	0,0	16	40,00	95,00
Hor	14	35,00	3	7,50	5	12,50	18	45,00	100,00
Cit	7	17,50	3	7,50	6	15,00	18	45,00	85,50
Tes	6	15,00	11	27,50	9	22,50	14	35,00	100,00
Total de fungos	20%		10,31%		10,31%		40,00%		

T12 (*Trichoderma* 12g), Man (Mancozeb 3g.L⁻¹), T36 (*Trichoderma* 36g), For (Formaldeído 5%), Alh (Extrato de Alho 10%), Hor (Óleo de Hortelã 25µL), Cit (Óleo de Citronela 25µL) e Tes (Testemunha).

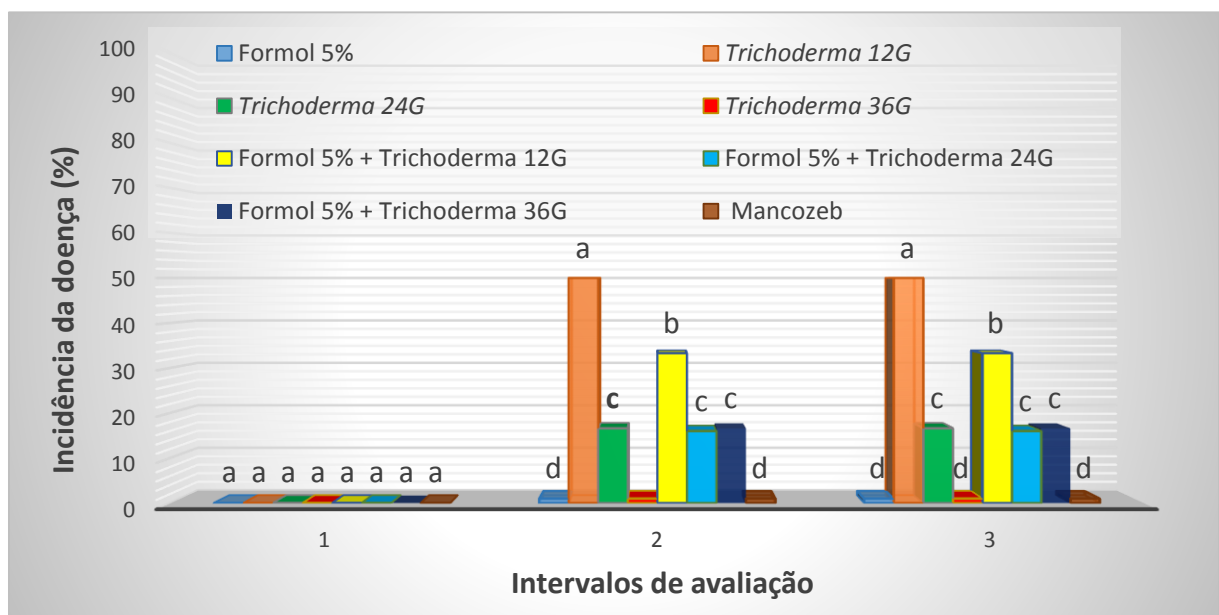
A elevada porcentagem de incidência do gênero *Rhizopus* nas sementes de graviola tratadas com produtos naturais e fungicidas é preocupante, tendo em vista a importância econômica desse fungo para a cultura da graviola. Conforme relatos de Nieto-Angel et al. (1998), no estado da Bahia, são comuns perdas de 50 a 70% de frutos na pós-colheita em graviola causadas por *Rhizopus stolonifer*. A importância econômica desse fungo foi ratificada por Junqueira (2014).

Essa quantidade de fungos encontrados nas sementes podem ter sido favorecida por alterações de temperatura e alta umidade no interior das caixas Gerbox ou à concentração de algum fator de crescimento, o qual, em elevadas concentrações dos produtos, passaram a servir de substrato, estimulando o desenvolvimento dos fungos.

4.9 Controle alternativo da podridão seca de caule e raiz provocada por *L. theobromae* em gravioleiras.

A incidência da podridão seca da gravioleira, expressa pelo número de mudas mortas, não foi observada durante o primeiro período de avaliação, sendo a incidência influenciada pelos tratamentos nas covas de plantio, nos demais períodos (Figura 10).

Figura 10- Efeito de formaldeído, *Trichoderma* sp. e mancozeb sobre a incidência natural da podridão seca da gravioleira (*Lasiodiplodia theobromae*) aos 15 dias, 30 dias e 45 dias após o plantio. Fonte: (SANTOS, D.V, 2014)



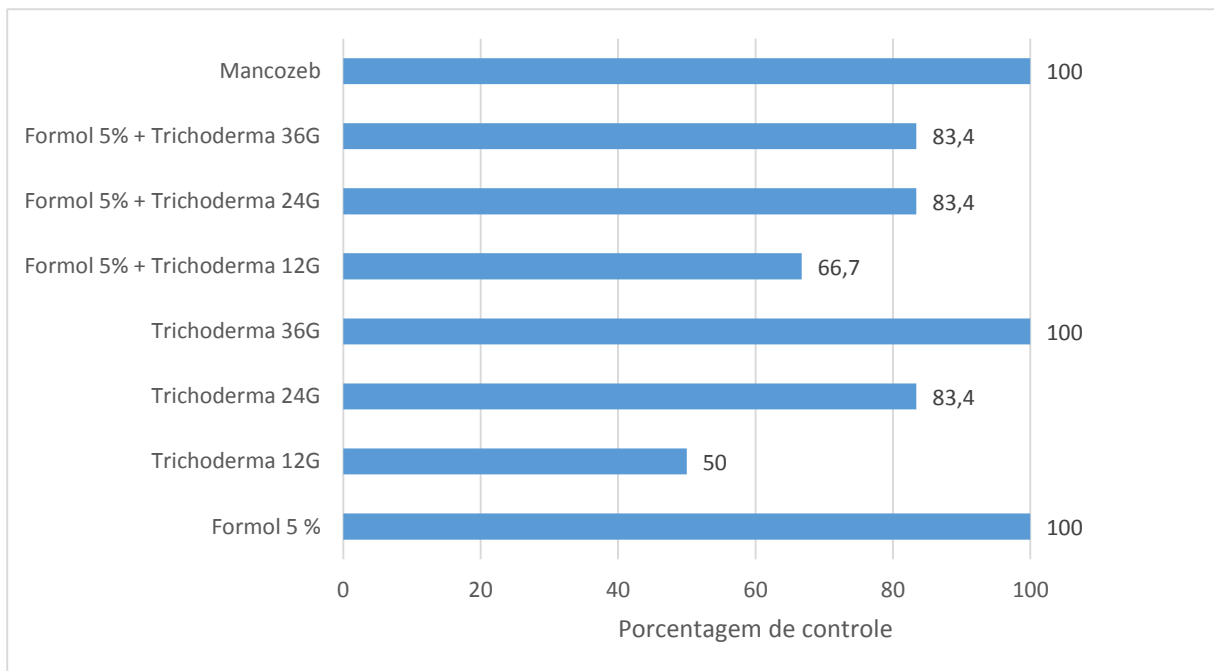
Nas covas tratadas com formaldeído a 5%, 36 g de *Trichoderma* e mancozeb as mudas permaneceram sadias. Os tratamentos das covas com 24 gramas de *Trichoderma* sp.; formaldeído a 5% associado a aplicação de 24g de *Trichoderma* sp. e formaldeído a 5% associado a 36 gramas de *Trichoderma* sp. a doença foi observada em 16,6% das mudas. Um incremento da incidência da doença

ocorreu no tratamento das covas de plantio com formaldeído a 5% associado a aplicação de 12 gramas de *Trichoderma* sp. (33,3%). Enquanto que no tratamento das covas de plantio com 12 gramas de *Trichoderma* sp. ocorreu o maior nível de incidência da podridão seca da gravioleira (50%).

A ausência da incidência da doença no tratamento apenas com formaldeído pode ser devido ao fato do formaldeído ter eliminado o inoculo presente no solo. A diminuição da incidência nas covas tratadas com formaldeído associado a 12 gramas de *Trichoderma* comparada ao tratamento com apenas 12 gramas de *Trichoderma* corrobora com esta hipótese. Ressalte-se, porém, que os tratamentos foram aplicados em uma área naturalmente infestada e que a parcela pode ter sido instalada em covas com menor potencial de inoculo em relação aos outros tratamentos, implicando em diminuição da incidência da doença ao longo do tempo.

A aplicação dos tratamentos controlaram a podridão seca da gravioleira, com níveis de controle variando de 50% a 100% (Figura 11).

Figura 11- Efeito de *Trichoderma* sp. e formaldeído sobre o controle da podridão seca da gravioleira (*Lasiodiplodia theobromae*) 45 dias após o plantio de mudas. Fonte: (SANTOS, D.V, 2014)



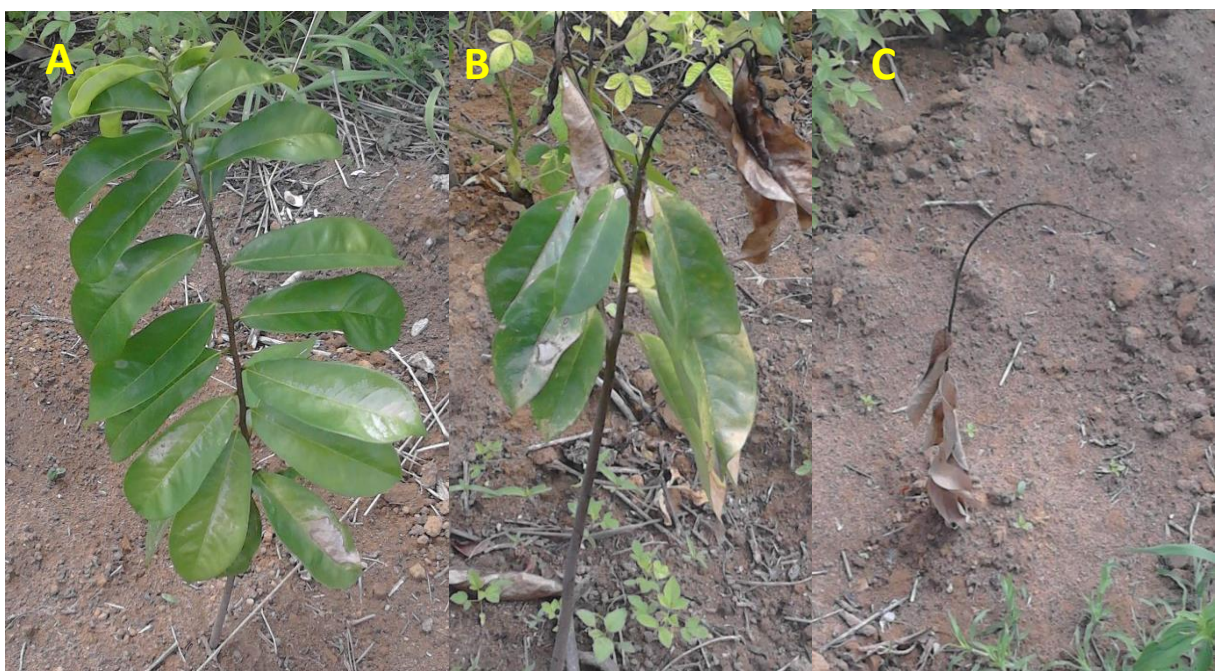
O tratamento das covas de plantio com formaldeído a 5%, 36 gramas de *Trichoderma* sp. e mancozeb proporcionaram 100% de controle da doença,

comprovado pela ausência de sintomas no período avaliado. Nas covas tratadas com formaldeído a 5%, associado a aplicação de 24 e 36 gramas de *Trichoderma* sp., houve o controle de 83,4%. O tratamento com formaldeído a 5% associado a aplicação de 12 gramas de *Trichoderma* sp. proporcionou um controle de 66,7%. O menor nível de controle foi obtido com o tratamento das covas de plantio com 12 gramas de *Trichoderma* sp., (50%).

Os poucos trabalhos envolvendo a utilização de formaldeído associado a *Trichoderma* sp. tem obtido resultados bastante interessantes. Auer e Gomes, (2012), obtiveram apenas 5,7% de incidência em plantios de *Pinus elliottii*, infestados naturalmente por *Armillaria* sp. Todavia os mesmo autores também constataram que unir um fumigante de solo a um organismo vivo, pode não ser positivo, mas novos trabalhos envolvendo novas concentrações podem ser estudadas para melhorar a eficiência no controle do fungo.

A Figura 12 apresenta o aspecto das mudas de gravioleira nos diversos períodos de aplicação dos tratamentos.

Figura 12- Mudanças de graviola sadia aos 15 dias após o transplante (A), com sintoma de *L. theobromae* aos 30 dias após o transplante (B) e morta aos 45 dias após o transplante (C).
Foto: (SANTOS, D.V, 2014)



5 CONCLUSÃO

O extrato aquoso de alho a 10% e os óleos de citronela, eucalipto e hortelã (25 µL) controlam o crescimento in vitro de *Lasiodiplodia theobromae*. No entanto, apenas o extrato de alho a 10% é capaz de controlar a podridão seca em mudas de gravioleira. Os óleos de hortelã e citronela causaram fitotoxidez e necessitam de mais estudos para serem recomendados.

Os extratos de cebola e gengibre não controlam o crescimento in vitro do fungo.

O tratamento de sementes de graviola com hipoclorito de sódio a 1% reduz significativamente a incidência de fungos, podendo ser uma boa alternativa de manejo para produção de mudas saudáveis e de qualidade.

A microbiolização de sementes de graviola com *Trichoderma* sp. é viável no controle de fungos endofíticos, visto que os tratamentos apresentaram redução de fungos associados às sementes de graviola.

O tratamento de covas de plantio com formaldeído a 5% e a adição de 36 g de *Thichoderma* sp. são eficientes na proteção de mudas de graviola contra a podridão seca causada por *L. theobromae*.

REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5ª ed. Flórida: ELSEVIER, 2004. 903p.
- AGROFIT. **Agrofit**: Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 11/02/2015.
- ALONSO, M. J. Z. **Efecto de la biofumigación y biosolarización en el control de agentes fitopatógenos**. 2009. 323p. Tese (Doutorado) Universidad Politecnica de Valencia. Valencia, 2009.
- AMORIM, E. P.R.; MELO, S. I. Efeito da associação de antagonistas no controle de *Phytophthora parasítica* e *P. citrophthora* em plântulas de citrus. **Summa Phytopathologica**. 25(4): 335-338. 1999.
- ANTUNES, M. D. C.; CAVACOB, A.; The use of essential oils for postharvest decay control. A review. **Flavour Fragrance Journal**, v. 25, p.351-366, 2010.
- AUER, C.G.; GOMES, N.S.B. **Avaliação de *Trichoderma viride* e formaldeído no controle da armilariose em plantios jovens de *Pinus elliottii* var. *elliottii***. *Ambiência Guarapuava*.Paraná. v.8 n.2 p. 379 - 385 Maio/Abr. 2012.
- BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco: W. H. Freeman and Company, vol 75, 1984.
- BAKKALI, F.et al. Biological effects of essential oils – A review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p.446–475, 2008.
- BARGUIL, B. M. et al. Effect of extracts from citric biomass, rusted coffee leaves and coffee berry husks on *Phoma costarricensis* of coffee plants. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n. 5, p. 535-537, 2005.
- BENÍTEZ, T. et al. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma strains*. **International Microbiology**, 7(4): 249-260, 2004.
- BERNARDO, R. et al. Atividade antibacteriana de plantas medicinais. **Summa Phytopathologica**, v. 28 p. 1-10, 2002.
- BETTIOL, W. Controle biológico de doenças do filoplano. In: BETTIOL, W. (Org.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA. 338p. 1991.
- BIZI, R. M. **Alternativa de controle do mofo cinzento e do oídio em mudas de eucalipto**. 2006. 80 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

BONALDO, S.M. et al. Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). **Summa Phytopathologica**, v.33, n.4, p.383-387, 2007.

BRASIL. **Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes.** Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365p. 1992.

BRITO, D. R. et al. Efeito dos óleos de citronela, eucalipto e composto citronelal sobre micoflora e desenvolvimento de plantas de milho. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. Vol. 3, N. 4: pp. 184-192, 2012.

CARDOSO, J.E. et al. Evaluation of resistance in dwarf cashew to gummosis in north-eastern Brazil. **Crop Protection**, Kent, v.25, p.855-859, 2006.

CARDOSO, J.E. et al. Ocorrência endofítica de *Lasiodiplodia theobromae* em tecidos de cajueiro e sua transmissão por propágulos. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.35, n.4, p.262-266, 2009.

CARDOSO, J.E.; FREIRE, F.C. O.; SÁ, F.T. Disseminação e controle da resinose em troncos de cajueiro decepados para substituição de copa. **Fitopatologia Brasileira**, v.23, n.1, p.48-50. 1998.

CARVALHO D.D.C. et al. Controle de *Fusarium oxysporum* f.sp.*phaseoli* *in vitro* e em sementes, e promoção do crescimento inicial do feijoeiro comum por *Trichoderma harzianum*. **Tropical Plant Pathology** 36 (1), pag 028 – 034, 2011.

CASTRO, H. G. et al. Crescimento, teor e composição do óleo essencial de *Cymbopogon nardus* (L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 9, n. 4, p. 55-61, 2007.

COOK, I. Biological control of plant diseases: broad concepts and applications. In: The biological control of plant diseases. **Proceedings of the International Seminar on Biological Control of Plant Diseases and Virus Vectors**. FFTC, Taipei. Ed. Bay-Peterson, p. 1-29, 1991.

COSTA, A. R. T. et al. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. e L.M. Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.2, p.240-245, 2011.

COSTA, C. M. G. R. et al. Óleo essencial de citronela no controle da bactéria fitopatogênica *Erwinia carotovora*. **Tecnologia & Ciência Agropecuária**, João Pessoa, v.2, n.2, p.11-14, 2008.

COUTO, J.M.F. et al. Desinfestação e germinação *in vitro* de sementes de mogno (*Swietenia macrophylla* King). **Revista Árvore**, Viçosa, v. 28, n.5, p. 633-642. 2004.

CRUZ, M.E.S. et al. **Eficácia das plantas medicinais *Ocimum basilicum*, *Lavanda ficinalis*, *Cymbopogon citratus* e *Eucalyptus citriodora* no controle de fungos de sementes.** In: Simpósio de plantas medicinais do Brasil, 15. São Paulo, 1998. Anais...São Paulo: SPMB, p.53. 1998.

CUNICO M.M. et al. Estudo da atividade antifúngica de *Ottonia martiana* Miq., Piperaceae: um teste *in vivo*. **Visão Acadêmica**, v.4, n.2, p.77-82, 2003.

DE MEYER et al. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 biocontrol of *Botrytis cinera*. **European Journal of Plant Pathology**, 104: 279-286, 1998.

DENIS, C. R.; WEBSTER, J. **Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics**. Transactions of the British Mycological Society, v. 57, p. 25-39, 1971.

DEQUECH, S. T. B. et al. Fitotoxicidade causada por inseticidas botânicos em feijão-de-vagem (*Phaseolus vulgaris* L.) cultivado em estufa plástica. **Revista da FZVA**, Uruguaiana, v.15, n.1, p.71-80, 2008.

DIAS-ARIEIRA, C.R. et al. *Eucalyptus citriodora* and *Azadirachta indica* oil activity in the control of *Colletotrichum acutatum*, in strawberry crop. **Summa Phytopathologica**, v.36, n.2, p.228-232, 2010.

DINIZ, K. A. et al. Sweet pepper seed responses to inoculation with microorganisms and coating with micronutrients, aminoacids and plant growth regulators. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 66, n. 3, p. 293-297, 2009.

DONADIO, L.C.; NACHTIGAL, J.C.; SACRAMENTO, C.K. **Frutas exóticas**. Jaboticabal: FUNEP, 279 p. 1998.

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G.L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, v. 61, p. 42-44, 1971.

ESCOBAR, T.; SÁNCHEZ, L. Guanábano. In: GALLEGO, R. (Ed.). **Fruticultura colombiana**. (Manual de assistência técnica, 57). Palmira, Colombia: Produmedios, p.225-230, 1992.

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

FREIRE, F.C. O. et al. **Novos hospedeiros do fungo *Lasiodiplodia theobromae* no Estado do Ceará**. (Comunicado Técnico, 91). Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 6p, 2004.

FREITAS, A.L.G.E. **Caracterização da produção e do mercado da graviola (*Annona muricata* L.) no estado da Bahia**. 2012. 108 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2012.

FURTADO, D. C. **Controle alternativo de *Fusarium semitectum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata* e *C. eragrostides* em inflorescências de *Tapeinochillus anannaceae***. 2006. 89p. Dissertação (Mestrado) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 2006.

GARCIA, R.A. et al. Atividade antifúngica de óleos e extratos vegetais sobre *Sclerotinia sclerotiorum*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.28, n.1, p.48-57, Jan./Feb. 2012.

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

GOMES, N. S. B.; AUER, C. G. Avaliação de *Trichoderma viride* e formaldeído no controle da armilarirose em plantios jovens de *Pinus elliottii* var. *elliottii*. **Ambiência Guarapuava** (PR) v.8 n.2 p. 379 - 385 Maio/Abr. 2012.

GULLINO M.L. et al. Replacing methyl bromide for soil disinfestation. The italian experience and implications for other countries. **Plant Disease**, p.87. 2003.

HANADA, E. H.; PIROVANI, C. P.; POMELLA, A. W. V.; PEREIRA, J. O. Produção de glucanases e celulase em meios de cultura por *Trichoderma viride*, potencial agente de biocontrole da podridão, parda do cacau. Brasília, **Fitopatologia Brasileira**, p.31.2006.

HARMAN, G. E. et al. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews, **Microbiology**, Washington, v. 2. 2004.

HOMECHIN, M. **Controle biológico de patógenos do solo**. In: BETTIOL, W.(Ed.) **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Centro Nacional de Pesquisa de Defesa da Agricultura, p. 7-23, 1991.

HOWELL, C.R. et al. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. **Phytopathology**, v.90, p.248–252, 2000.

ITO, M.F. et al. Comparação de métodos para detecção de *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp. em sementes de amendoim (*Arachis hypogaea* L.). **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 18, n. 3, p. 262-268, 1992.

JUNIOR LOBO, M.; GERALDINE, A.M; CARVALHO, D.D.C. **Controle biológico de patógenos habitantes do solo com *Trichoderma* spp. na cultura do feijoeiro comum**. Circular técnico 85. Santo Antonio do Goiás, 2009.

JUNQUERIA, N. T. V. et al. **Graviola para exportação: Aspectos fitossanitários**. Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exploração de Frutas, Hortaliças, Flores e Plantas Ornamentais- Brasília: EMBRAPA-SPI, v. 22, 76 p. 1996.

JUNQUEIRA, N. T. V. ; CUNHA, M. M. ; JUNQUEIRA, K. P. . Doenças e Pragas de anonáceas. In: MANICA, I. ET AL. **Frutas anonáceas: ata ou pinha, atemólia, cherimólia e graviola: tecnologia de produção, pós-colheita e mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes Editora, 2003. v.1, p.387-440.

JUNQUEIRA, N.T.V.; JUNQUEIRA, K.P. Principais doenças de Anonáceas no Brasil: descrição e controle. **Revista Brasileira de Fruticultura**. [online]. vol.36, pp. 55-64, 2014.

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F.F. **Dicionário terapêutico Guanabara**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 18, p.2. 2003.

KRANZ, J.; SCHUMUTTERUR, H.; KOCH, W. **Diseases pest and weeds in tropical crops**. Berlim: Verlag Paul Parey, p. 666, 1977.

LEDEZMA, E.; APITZ-CASTRO, R. **Ajoene, el principal compuesto activo derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente antifúngico**. Revista Iberoamericana de Micología, v.23, p.75-80, 2006.

LEITE, C.D et al. **Extrato de alho no controle in vitro e in vivo da antracnose da videira**. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.14, n.3, p.556-562, 2012.

LEMAR K.M.; PASSA O.; AON, M.A. **Allyl alcohol and garlic (*Allium sativum*) extract produces oxidative in *Candida albicans***. Microbiology. v.151, p. 3257-3265. 2005.

LEMOS, E.E P. **A produção de anonáceas no Brasil**. Revista Brasileira de Fruticultura, vol.36, no.spe1, p.77-85, 2014.

LIMA, M. A. C. O cultivo da gravioleira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal – SP, vol. 26, n. 3. 2004.

LIMA et al. **Ação fungitóxica de extratos vegetais de plantas da caatinga sobre o crescimento micelial de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl em *Vitis vinífera* L.** Disponível em: <http://connepi.ifal.edu.br/ocs/index.php/connepi/CONNAPI2010/paper/viewFile/1723/9>. Acessado em 06/01/2015.

LOPEZ, A.M.Q. **Doenças das anonáceas e do urucuzeiro**. In: KIMATI, H et al.; (Ed.). Manual de fitopatologia. São Paulo: Agronômica Ceres, v.2, p.73-77. 2005.

LOURD, M.; ALVES, M.L.B. A mancha zonada da gravioleira (*Annona muricata* L.) causada por *Sclerotium coffeicolum*, nova doença na região de Manaus. **Fitopatologia Brasileira**, v.11, n.4, p.1015-1017, 1986.

LUCON, C.M.M. **Trichoderma no controle de doenças de plantas causadas por patógenos de solo**. Artigo em Hipertexto. Disponível em: http://www.biologico.sp.gov.br/artigos_ok.php?id_artigo=77 2008. Acesso em: 28/nov./2014.

LUZ, W.C da. **Microbiolização das sementes: uma comparação com o tratamento químico no controle dos principais patógenos das sementes de trigo**. Pesq. Agropecu. Bras., Brasília, v. 33, n. 5, 1998.

MAAS, P.; Lobão, A.; Rainer, H. **Annonaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB110572>>. Acesso em: 03 Fev. 2015.

MARTIN-CORDER, M.P.P.; MELO, I.S. Influência de *Trichoderma viridee* .koningii na emergência de plântulas e no vigor de mudas de berinjela. **Revista Brasileira de Biologia**, v.57, n.1, p.39-45, 1997

MEDICE, R. et al. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. e P. Syd. **Ciênc. agrotec.** Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, jan./fev., 2007.

MELO, I. S. Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos. (Eds.) **Controle biológico**. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998.

MENESES, A.J.E.A; GALVÃO, E.U.P. **Controle alternativo da broca-do-fruto da gravioleira por meio do ensacamento do fruto com papel jornal em uma comunidade no município de capitão-poço, pará**. Disponível em: <http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/60406/1/Rel-2.pdf>. Acesso em 10/01/2015.

MIETH, A. Microflora e qualidade fisiológica de sementes de cedro (*Cedrella fissilis*) tratadas com extrato natural de hortelã (*Mentha piperita*). **Revista Brasileira de Agroecologia**, Porto Alegre. 2, n. 2, 2007.

MOHALI, S.; BURGESS, T.I.; WINGFIELD, M.J. Diversity and host association of the tropical tree endophyte *Lasiodiplodia theobromae* revealed using simple sequence repeat markers. **Forest Pathology**, Berlin, v.35, p.385-396, 2005.

MORAIS, L. A. S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2 (Suplemento - CD Rom), agosto 2009.

MOREIRA, L.M.; MAY-DE MIO, L.L. Controle da podridão parda do pessegueiro com fungicidas e fosfitos avaliados em pré e pós-colheita. **Ciênc. agrotec.** [online]. 2009, vol.33, n.2, pp. 405-411. 2009.

MULLEN, J.M. et al. Canker of dogwood caused by *Lasiodiplodia theobromae*, a disease influenced stress or cultivar selection. **Plant Disease**, St. Paul, v.75, p.886-889, 1991.

NASCIMENTO, L.C; NERY, A.R; RODRIGUES, L.N. Controle de *Colletotrichum gloeosporioides* em mamoeiro, utilizando extratos vegetais, indutores de resistência e fungicida. **Acta Sci., Agron.** vol.30, n.3, pp. 313-319. 2008.

NEERGAARD, P. **Seed pathology**. 2.ed. London: MacMillan, v.1, 839p. 1979.

NIETO-ANGEL, D.; SÃO JOSÉ, A.; SOUZA, S. E. **Perdas na pré e pós-colheita de graviola no Estado da Bahia**. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 15. 1998, Poços de Caldas. Anais.... Poços de Caldas: SBF, 1998. p. 400.

NOGUEIRA, E.A; MELLO, N. T. C.; MAIA, M.L. **Produção e comercialização de anonáceas em São Paulo e Brasil**. Informações econômicas, v.35, n.2, p.51-54, 2005.

PEDRAZA, J. M. T. Control of *Lasiodiplodia theobromae*, the causal agent of dieback of sapote mamey [*Pouteria sapota* (Jacq.) H. E. Moore and Stearn] Grafts in México. **Rev. Fitotec. Mex.** Vol. 36 (3): 233 - 238, 2013.

PEDROSO, D. C. et al. Potencial Inibitório in vitro de *Alternaria solani* sob Efeito de Extratos Botânicos. **Revista Brasileira de Agroecologia**. Vol. 4, nov, Nº. 2. 2009

PEREIRA, A.L.; SILVA, G.S.; RIBEIRO, V.Q. Caracterização fisiológica, cultural e patogênica de diferentes isolados de *Lasiodiplodia theobromae*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, p.572-578, 2006.

PICOLOTTO, L. et al. Efeito do hipoclorito de sódio, fotoperíodo e temperatura no estabelecimento *in vitro* de jabuticabeira. **Scientia Agraria**, v.8, n.1, p. 19-23, 2007.

PINTO, A.C. Q. et al. **Annona species**. Southampton: Internacional Centre of Under Utilised Crops, University of Southampton, p. 71-126. 2005.

PINTO, A.C.Q.; SILVA, E.M. **Graviola para exportação, aspectos técnicos da produção**. Embrapa-SPI, Brasília. 1994.

RAMOS, V. H. V.; PINTO, A. C. Q.; RODRIGUES, A. A. Introdução e importância socioeconômica. In: OLIVEIRA, M. A. S. (ed.). **Graviola. Produção: aspectos técnicos**. Embrapa Cerrados (Planaltina, DF) Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. p. 9. 2001. (Frutas do Brasil; 15).

RODRIGUES, E. et al. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.2, p.124-128, 2007.

RODRIGUES, R. **Caracterização morfológica e patológica de *Lasiodiplodia theobromae*, agente causal da podridão do tronco e raízes de videira**. 2003. 53p. Dissertação (mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical). Instituto Agrônomo de Campinas. Campinas, 2003.

RODRIGUES, R., PARADELA FILHO, O., RIBEIRO, I.J.A. Caracterização morfológica e patológica de *Lasiodiplodia theobromae*, agente causal da podridão do tronco e raízes de videira. **Summa Phytopathologica**, v. 30, p.43-50, 2004.

RODRÍGUES-KABANA, R.; CALVET, C. Capacidad del suelo para controlar enfermedades de origen edáfica. **Fitopatologia Brasileira** 19: 129-138. 1994.

SACRAMENTO, C.K. et al. **Fruticultura tropical: espécies regionais e exóticas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009.

SANTOS, M.Q.C. **Enraizamento de estacas de gravioleira (*Annona muricata* L.) cv. "Gigante das Alagoas**. 2010. 83 f. Dissertação (Mestre em Produção Vegetal). Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, 2010.

SANTOS, P.L. **Efeito de óleos essenciais sobre o fungo *Phomopsis sojae* e a qualidade fisiológica de sementes de soja**. 2014. vi, 51 f. Dissertação (mestrado) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu, 2014.

SÃO JOSÉ, A. R. et al. Atualidades e perspectivas das Anonáceas no mundo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. [online], v36, Edição especial, p. 086-093, Fevereiro 2014

SARMENTO-BRUM. et al. Efeito de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a antracnose do sorgo. **Bioscience Journal**. Uberlândia, v. 29, Suplemento 1, p. 1549-1557, Nov. 2013

SARMENTO-BRUM. et al. Phytotoxicity of essential oils in watermelon, bean and rice plants. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. Vol.5, N.2: pp.101-109, May, 2014.

SCHAWN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. **Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência**. Piracicaba: FEALQ, P.125-138. 2005.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. **Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal**. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). *Interação planta patógeno – fisiologia, bioquímica e biologia molecular*. Piracicaba: FEALQ, p.227-248. 2008.

SEIXAS, P.T.L et al. Controle fitopatológico do *Fusarium subglutinans* pelo óleo essencial do capim-citronela (*Cymbopogon nardus* L.) e do composto citronelal. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.13, especial, p.523-526, 2011.

SILVA, J.C. **Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistência no controle alternativo do mal-do-panamá da bananeira**. 65 f, Dissertação (Mestre em Agronomia/Produção Vegetal). Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo, Alagoas, 2007.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. **Óleos voláteis**. In: SIMÕES, C.M.O. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, Cap.18. 2000.

SMAN, M.B. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection**, v.19, p.603-8, 2000.

SORIANO, W. T. **Avaliação de métodos alternativos no controle de *Phytophthora* sp em laranja pêra e limão cravo.** 68f. Dissertação (mestrado em Agronomia: Produção e Proteção Vegetal) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias. Rio Largo, 2011.

SOUZA, A.E.F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L.C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolados de grão de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p. 465-470, 2007.

TAKESHITA, V. et al. Efeito inibitório de extratos vegetais da família allioideae sobre *Guignardia citricarpa*- agente causal da mancha reta em Citrus. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.10, n.19, p. 2014.

TANU, A. P.; ADHOLEYA, A. Effect of different organic manures/composts on the herbage and essential oil yield of *Cymbopogon winterianus* and their influence on the native AM population in a marginal alfisol. **Bioresource Technology**, v. 92, n. 3, p. 311-319, 2004.

TAVANTI, T.R. et al. Ocorrência de *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*, e uso de biopesticidas no controle de mancha angular na abobrinha “menina brasileira”. **Agrarian Academy**. Centro de Científico Conhecer-Goiânia, v.1, n.02, p 109, 2014.

TAVARES, C. C. H. et al. *Botryodiplodia theobromae* (Pat.) em mangueira no Vale São Francisco, IV proteção de pomares. **Fitopatologia Brasileira**, v. 19 (Suplemento), p. 292,1994.

TAVARES, S. C. C. H. **Principais doenças da mangueira e alternativas de controle.** In: EMBRAPA. CPATSA. **Informações técnicas sobre a cultura da manga no Semiárido brasileiro.** Brasília: EMBRAPA-SPI, 1995.

TAVARES, S.C.C.H. Epidemiologia e manejo integrado de *Botryodiplodia theobromae* – situação atual no Brasil e no mundo. **Fitopatologia Brasileira**, v.27, p.46 52. 2002.

TAVARES, S.C.C.H.; BARRETO, D.S.B.; AMORIM, L.R. **Levantamento do comportamento de *Botryodiplodia theobromae* em videira na região semi-árida.** Anais, XII Congresso Brasileiro de Fruticultura, Salvador, BA, pp. 933-934,1994.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. **Podridão de raízes de macieira.** Embrapa Documentos, n. 2, 16p., 1988.

VALDEBENITO-SANHUEZA, R. M. Possibilidades do controle biológico de *Phytophthora* em macieira. In: BETTIOL, W. (Ed.). **Controle Biológico de Doenças de Plantas.** Embrapa-CNPDA, Jaguariúna. p. 303-305, 1991.

VENTUROSO, L. R. et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologia**, Botucatu, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.

VINALE, F. et al. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 40, p. 1-10, 2008.

YEDIDIA, I. et al. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. **Applied and Environmental Microbiology**, 65: 1061-70, 1999.

ZORATO, M.F.; HOMECHIN, M.; HENNING, A.A. Efeito da assepsia superficial com diferentes agentes químicos na incidência de microrganismos em sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.23 n.1 p. 159-166, 2001.