



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS – UFAL
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CECA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
(PRODUÇÃO VEGETAL)



MARIA ERIKA FRANCISCA DE SÁLES OLIVEIRA

CONTROLE ALTERNATIVO DA QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME
(*Curvularia eragrostidis*) (HENN.) MEYER

RIO LARGO-AL

2014

MARIA ERIKA FRANCISCA DE SÁLES OLIVEIRA

CONTROLE ALTERNATIVO DA QUEIMA DAS FOLHAS DO INHAME

***(Curvularia eragrostidis)* (HENN.) MEYER**

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

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Edna Peixoto da Rocha Amorim

RIO LARGO – AL

2014

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário Responsável: Valter dos Santos Andrade

O48c Oliveira, Maria Erika Francisca de Sáles.
Controle alternativo da queima das folhas do inhame
(*Curvularia eragrostidis*) (Henn.) Meyer / Maria Erika Francisca de Sáles
Oliveira. - 2014.
57 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia : Produção Vegetal) –
Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo,
2014.

Bibliografia: p. 48-57.

1. *Dioscorea cayennensis* 2. Fungos. 3. Produtos naturais. 4. Inhame.
I. Título.

CDU: 633.496

À DEUS

Por sempre cooperar para o meu bem.

AGRADEÇO

AOS MEUS PAIS

(Aprigio da Silva Oliveira e Maria Esmeralda de Sáles Oliveira,

MEU FILHO

(Erik Noah Monteiro Sales)

e IRMÃOS

(Emanuelle de Sáles Oliveira e Emerson Wilke de Sáles Oliveira)

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora Prof^a Dr^a Edna Peixoto da Rocha Amorim pelo apoio, orientação, paciência e compreensão.

A minha família sempre presente pela educação, exemplo, confiança e amor.

As minhas amigas Maria Quiteria Cardoso dos Santos, Gleice Pires do Nascimento e Jaqueline Figueredo pela grande ajuda nos experimentos, compreensão e amizade.

As minhas amigas Hully Monaízy, Vanessa Melo, Ellen Valente pelo apoio, amizade.

Aos meus colegas Valdeir Nunes e Carlos Henrique Cavalcante, pela ajuda.

Aos meus colegas do Laboratório de Fitopatologia.

Aos professores do Mestrado em Agronomia (Produção Vegetal) da Universidade Federal de Alagoas, aos colegas e funcionários pelo incentivo.

A todos que de alguma forma colaboraram para realização desse trabalho.

*“Tudo tem o seu tempo determinado
e há tempo para todo propósito debaixo do céu”.*

(Eclesiastes 3:1)

RESUMO

A queima das folhas do inhame (*Curvularia eragrostidis*) ocorre regularmente em áreas produtoras, causando perdas significativas na produtividade da cultura. Este fungo pode apresentar variabilidade morfofisiológica. As tentativas de controle da doença tem sido pouco eficientes e a falta de agrotóxicos registrados para a cultura tem levado a busca de alternativas naturais. O objetivo desse trabalho foi caracterizar morfofisiologicamente *C. eragrostidis* e avaliar o efeito de produtos naturais sobre o controle da doença. Os meios de cultura BDA, LCA, CA, ADA e FDI foram usados para avaliar o crescimento micelial do fungo. Nos meios BDA, LCA e CA foi realizada a caracterização cultural. Sob condições de escuro contínuo, claro contínuo, e luz alternada (12 horas), nos meios BDA, LCA e CA foi avaliada a esporulação do fungo. A determinação da massa micelial foi realizada através do cultivo do fungo nos meios de cultura líquidos BD, C e LC e secagem da massa micelial a 60°C por 48 horas. Na avaliação de produtos naturais, discos de micélio do fungo foram transferidos para placas de Petri com meio BDA contendo os produtos: manipueira (40%); extrato de alho (20%); extrato de melão de São caetano (20%); óleo de hortelã pimenta (100µL); Ecolife® (20%); fungo *Trichoderma sp.* (10^8 conídios.mL⁻¹); fungicida mancozeb (2,0g.L⁻¹). A avaliação da porcentagem de inibição micelial foi realizada após sete dias de incubação. Os produtos testados “in vitro” foram aplicados sobre as folhas de inhame cv. da Costa (*Dioscorea cayennensis*). Dois dias após, as plantas foram inoculadas com uma suspensão do patógeno ($1,7 \times 10^6$ con.mL⁻¹). Os resultados mostraram que o crescimento do fungo não foi afetado pelos meios de cultura. As características culturais do isolado de *C. eragrostidis* variaram de acordo com o substrato empregado, mas em geral as colônias apresentaram esporulação distribuída em todo o perímetro central da placa, micélio de coloração cinza esverdeado a verde musgo, com superfície de contorno lisa e margens brancas com aspecto esfiapado. Os maiores índices de esporulação de *C. eragrostidis* ocorreram no meio de BDA, nos regimes de luz alternada e escuro contínuo, com médias de $2,84 \times 10^6$ con.mL⁻¹ e de $2,42 \times 10^6$ con.mL⁻¹, respectivamente. A maior quantidade de massa micelial foi proporcionada pelo meio LC. Todos os produtos testados foram capazes de inibir o crescimento micelial do fungo, sendo que o Ecolife® e a manipueira promoveram uma inibição de 100%. O extratos de alho e de melão de São caetano, o óleo de hortelã pimenta, o fungo *Trichoderma sp.* e o fungicida mancozeb foram capazes de reduzir a severidade da queima das folhas de inhame.

Palavras-chave: *Dioscorea cayennensis*. Fungo. Produto natural.

ABSTRAT

The taro leaf blight (*Curvularia eragrostidis*) occurs regularly in producing areas, causing significant losses in crop yield. This fungus can present Morphophysiological variability. Attempts to control the disease have been inefficient and lack of registered pesticides for culture has led to the search for natural alternatives. The objective of this study was to characterize *C. eragrostidis* morfofisiologicamente and evaluate the effect of natural products on disease control. The means of PDA, LCA, CA, ADA and IDF culture were used to evaluate the mycelial growth of the fungus. In the media PDA, CA and LCA cultural characterization was performed. Under conditions of continuous darkness, continuous light and alternating light (12 hours), in the means PDA, CA LCA and sporulation of the fungus was evaluated. The mycelial mass determination was performed by growing the fungus in liquid culture media PD, C and LC and drying at 60 ° C for 48 hours. In the evaluation of natural products mycelia discs were transferred to Petri dishes containing PDA medium Products: cassava (40%); garlic extract (20%); melon extract Sao Caetano (20%); peppermint oil (100mL); Ecolife ® (20%); *Trichoderma* sp. (10^8 conidia mL⁻¹); fungicide mancozeb (2.0 gL⁻¹). The evaluation of percent mycelial inhibition was carried out after seven days of incubation. "In vitro" products tested were applied on the leaves of cv. Costa (*Dioscorea cayennensis*). Two days later, the plants were inoculated with a pathogen suspension (1.7×10^6 con.mL⁻¹). The results showed that the growth of the fungus was not affected by culture media. The cultural characteristics of the isolate of *C. eragrostidis* varied according to the substrate used, but in general the colonies sporulation distributed around the perimeter of the central plate, mycelium greenish gray moss green color with smooth surface contour and white borders with frayed appearance. The highest rates of sporulation of *C. eragrostidis* occurred in the middle of PDA in alternating light and continuous dark regimes, with averages of 2.84×10^6 con.mL⁻¹ and 2.42×10^6 con.mL⁻¹, respectively. The greatest amount of mycelial mass was provided through LC. All the products tested were capable of inhibiting the mycelial growth of the fungus, and the Ecolife ® and cassava promoted inhibition of 100%. The extracts of garlic and melon Sao caetano, oil of peppermint, *Trichoderma* sp. and mancozeb were able to reduce the severity of leaf blight yam.

Keywords: *Dioscorea cayennensis*. Fungus. Natural product.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Folhas de inhame submetidas ao teste de patogenicidade de <i>Curvularia eragrostidis</i>	24
Figura 2	Microcultivo de <i>Curvularia eragrostidis</i>	26
Figura 3	Erlenmeyres contendo meios líquidos BD, CD, LC respectivamente, com três discos de micélio de <i>Curvularia eragrostidis</i>	28
Figura 4	Escala diagramática da queima das folhas de inhame (<i>Dioscorea cayennensis</i>), indicando níveis de 1, 2, 4, 8, 16, e 32% de severidade	30
Figura 5	(A) Folhas de inhame (<i>Dioscorea cayennensis</i>) com sintomas de queima da folhas (<i>Curvularia eragrostides</i>), após inoculação com o isolado; (B) <i>C. eragrotidis</i> ; (C) Conídios e conidióforos de <i>C. eragrostidis</i>	31
Figura 6	Conídios de <i>C. eragrostidis</i> em meio BDA (batata-dextrose-ágar), isolados de folhas do inhame	34
Figura 7	Inibição do Crescimento micelial de <i>Curvularia eragrostidis</i> “in vitro” na presença de Ecolife® (20%), manipueira (40%), óleo de hortelã (100 µL), <i>Trichoderrma</i> sp. (10^8 conídios.mL ⁻¹), extrato de alho (20%), extrato de melão de São Caetano (20%), fungicida manconzeb (2,0 g/L ⁻¹)	38
Figura 8	Avaliação do efeito fungitóxico “in vitro” do óleo de hortelã pimenta, manipueira e Ecolife®	41
Figura 9	Efeito de extratos vegetais, óleo essencial, <i>Trichoderma</i> sp., Ecolife® e fungicida em relação a testemunha	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Médias de crescimento micelial de <i>Curvularia eragrostidis</i> em diferentes meios de cultura após sete dias	32
Tabela 2	Caracterização cultural de <i>Curvularia eragrostidis</i> em meios de BDA, CA e LCA	33
Tabela 3	Médias da esporulação de <i>Curvularia eragrostidis</i> em diferentes meios de cultura e regimes de luz (10^6 com.mL ⁻¹)	35
Tabela 4	Médias para influência dos meios de cultura líquidos no crescimento de <i>Curvularia eragrostidis</i> , aos sete dias de incubação	36
Tabela 5	Porcentagem de inibição de crescimento micelial de <i>Curvularia eragrostidis</i>	37
Tabela 6	Efeito de extratos vegetais, óleo essencial, <i>Trichoderma</i> sp., Ecolife® e fungicida no controle da Queima das folhas do inhame	42

SÚMARIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1	Aspectos gerais da cultura do inhame	14
2.2	Importância do inhame no Brasil	15
2.3	Problemas fitossanitários	16
2.4	Queima das folhas do inhame	16
2.5	Importância da caracterização morfofisiológica	17
2.6	Manejo da queima das folhas do inhame	19
3	MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1	Local do experimento	23
3.2	Isolamento de <i>C. eragrostidis</i> e manutenção das culturas	23
3.3	Teste de patogenicidade, reisolamento e identificação do patógeno	23
3.4	Obtenção de produtos alternativos	24
3.5	Influência de meios de cultura sobre o crescimento micelial de <i>C. eragrostidis</i>	25
3.5.1	Caracterização morfofisiológica de <i>C. eragrostidis</i>	25
3.5.2	Influência de meios de cultura e regimes de luz sobre a esporulação de <i>C. eragrostidis</i>	26
3.5.3	Influência de meios de cultura sobre a produção de massa micelial de <i>C. eragrostidis</i>	27
3.6	Avaliação in vitro dos produtos naturais sobre o crescimento micelial de <i>C. eragrostidis</i>	28
3.6.1	Avaliação do efeito fungicida.....	29
3.7	Avaliação in vivo de produtos naturais no controle da queima das folhas em inhame (<i>C. eragrostidis</i>)	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
4.1	Teste de patogenicidade, reisolamento e identificação do patógeno	31
4.2	Influência de meios de cultura sobre o crescimento micelial de <i>C. eragrostidis</i>	31
4.2.1	Caracterização morfofisiológica de <i>C. eragrostidis</i>	33
4.2.2	Influência de meios de cultura e regimes de luz sobre a esporulação de <i>C. eragrostidis</i>	34
4.2.3	Influência de meios de cultura sobre a produção de massa micelial de <i>C. eragrostidis</i>	36

4.3	Avaliação in vitro dos produtos naturais sobre o crescimento micelial de <i>C. eragrostidis</i>	37
4.3.1	Avaliação do efeito fungicida.....	40
4.4	Avaliação in vivo de produtos naturais no controle da queima das folhas em inhame (<i>C. eragrostidis</i>)	41
5	CONCLUSÕES	47
	REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

O inhame (*Dioscorea* spp.) constitui um dos principais alimentos em regiões tropicais (MAFRA, 1986). Apresenta grande importância socioeconômica para a região Nordeste do Brasil, sobretudo para os Estados da Paraíba, Pernambuco, Bahia, Maranhão e Alagoas, por ser um negócio agrícola promissor, dado a excelente qualidade nutritiva e energética de seus rizóforos e a grande utilidade para a alimentação humana, onde duas espécies são as mais utilizadas: *D. cayenensis* e *D. alata* (MOURA, 2006).

Apesar da importância socioeconômica que a cultura do inhame representa para a região Nordeste prestando enorme contribuição ao desenvolvimento rural, sua produtividade pode ser considerada baixa, em decorrência de diversos fatores, destacando-se os problemas fitossanitários (SANTOS 1996; MACEDO, 2002). Entre esses problemas destaca-se a queima das folhas do inhame, causada pelo fungo *Curvularia eragrostidis* (Henn.)Meyer, que acarreta, em alguns casos, perda total da produção.

A queima das folhas em inhame, causada pelo fungo *C. eragrostidis* é uma importante doença que ocorre em todas as áreas onde se cultiva o inhame e limita a produção, pois, podem reduzir a produtividade em torno de 35 a 40% e diminuir conseqüentemente o valor unitário dos rizóforos (EMATER/IPA, 1985).

Algumas tentativas de controle dessa doença têm sido implantadas, mas sem grande sucesso. A restrição ao uso de fungicidas, devido à falta de registro para a cultura, à fitotoxicidade, efeitos residuais, espectro de ação e resistência pelo patógeno, tem levado à procura de métodos alternativos de controle, aplicados de forma economicamente viável com o intuito de melhorar a qualidade da produção (AGRIOS, 2005). Nos últimos anos vem sendo usado métodos alternativos que não façam uso de agrotóxicos, como a utilização de extratos de plantas, e outros compostos naturais, podendo ser de preparação caseira ou adquiridos no comércio, a partir de substâncias não prejudiciais ao homem ao meio ambiente (PENTEADO, 1999).

Vários extratos brutos e óleos essenciais de plantas já foram testados sobre fungos fitopatogênicos em diversos trabalhos, com resultados promissores em diversas culturas (BALBI-PENÑA et al., 2006; PEREIRA et al., 2006). Entre os produtos naturais destacam-se o Ecolife® (produto a base de biomassa cítrica), a manipueira (extrato líquido das raízes de cassava, *Manihot esculenta* Crantz) e os extratos de alho, melão de São caetano, que se apresentam como agrotóxico agrícola natural com comprovada ação nematicida, inseticida e

fungicida (PONTE, 2000; RODER et al., 2003; VILAS-BÔAS et al., 2004; BARGUIL et al., 2005; FURTADO, 2006; SOARES, 2009).

Os fungos têm desenvolvido muitos mecanismos de sobrevivência e metabolismo de fontes nutricionais, alguns exploram melhor determinados micro habitats e competem com sucesso com outros microrganismos, podendo constituir em potentes agentes de controle biológico. O controle biológico envolve a introdução de antagonistas no solo, nas sementes, nos órgãos de propagação vegetativa, ou na parte aérea. Para o uso na parte aérea das plantas, esse é um dos métodos mais promissores para o controle de fitopatógenos, onde são caracterizados como produtos microbianos formulados com fungos e/ou bactérias, ou como produtos formulados com substâncias naturais.

Ainda são escassas as informações que elucidem os mecanismos de ação desse fungo, assim como, as relações de interação desse patossistema que são importantes para a aplicação de estratégias de controle eficazes a doença sem danos ao meio ambiente e ao próprio homem (MOURA, 2002, 2005).

Por conseguinte este trabalho tem como objetivo principal caracterizar morfofisiologicamente o agente etiológico causador da queima das folhas do inhame e avaliar o efeito de produtos naturais sobre o controle da doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos gerais da cultura do inhame

O Inhame (*Dioscorea* spp.) é uma planta monocotiledônea, herbácea, trepadeira, pertencente à ordem Liliales da família Dioscoreacea, e gênero *Dioscorea*, que apresenta cerca de 600 espécies (PEDRALLI, 2002), originária de zonas tropicais da Ásia e Oeste da África, onde é um alimento básico das populações de alguns países tropicais da África Negra, especialmente Nigéria e Costa do Marfim (KIMATI et al., 2005). Os maiores produtores mundiais de inhame concentram-se na Nigéria, Gana, Costa do Marfim, Camarões e Togo. Já o Brasil ocupa a 15^o posição na produção mundial (FAO, 2012).

Em algumas regiões do Brasil, o nome dado ao rizóforo de algumas espécies do gênero *Dioscorea* são: cará, cará-da-costa, inhame-da-costa, inhame-da-guiné-branco e inhame-de-são-tomé. Dentre as espécies de inhame cultivadas, as mais importantes, por suas túberas comestíveis são: *Dioscorea cayennensis* Lam. (inhame amarelo), *Dioscorea rotundata* Poir. (inhame branco), *Dioscorea alata* L. Many (inhame água), *Dioscorea trifida* L. e *Dioscorea esculenta* L. Schott (SANTOS 1996). A cultivar mais recomendada para o plantio comercial é a da Costa (*D. cayennensis*), enquanto a cultivar São Tomé é a menos plantada, dependendo da região.

De acordo com Santos (1996, 2002) é uma raiz tuberosa, alongada, de cor castanho-clara; caule volúvel, apresentando folhas opostas e raramente alternadas, lâmina ovalada a sub-oblonga. Geralmente os rizóforos para o consumo humano pesam de 1 a 10 kg. Propaga-se exclusivamente através de material vegetativo, que podem ser rizóforos-sementes ou rizóforos inteiros (NETO et al.,2000).

É uma cultura tipicamente tropical, de clima quente e úmido, onde a temperatura média deve ser de 23 a 25°C, com precipitações em torno de 1000 a 1600 mm anuais, ou sob regime de irrigação (SEBRAE, 2013). Com relação à umidade relativa do ar, ela deve ficar em torno de 60 a 70%, não tolera o frio e, especialmente geadas.

Pode ser cultivado em diversos tipos de solos com preferência de solos de textura arenosa e média, profundos, bem drenados e arejados, com pH na faixa de 5,5 a 6,0, ricos em matéria orgânica e com boa fertilidade (SANTOS, 1996).

A época de plantio do inhame no Sudeste do Brasil ocorre no início do período chuvoso entre setembro e novembro, já no Nordeste entre janeiro e março (SILVEIRA et al., 2010). O plantio pode ser feito em covas altas (matumbos) no tamanho de 0,40 x 0,40 m, com 0,30 m de altura; em camalhões (leirões) ou em sistemas de valas com profundidade de 45 m (NETO et al. 2000). Recomenda-se os espaçamentos de 1,20 x 0,60 m e 1,20 x 0,50 m para os plantios em leirões, e de 1,20 m x 0,80 m e 1,00 m x 0,80 m para os plantios manuais, em matumbos (SANTOS, 2002).

Durante o desenvolvimento vegetativo do inhame se faz o espaldeiramento, onde se utiliza uma vara com 2 m de comprimento por planta ou uma para cada duas plantas. Também pode-se fazer o espaldeiramento na forma de espaldeira, semelhante ao utilizado na cultura do tomate (AZEVEDO, 1997).

Na colheita do inhame podem ser realizadas duas vezes, dependendo da finalidade do cultivo. Quando pretende-se produzir rizóforos-semente através da técnica da capação, realiza-se uma colheita aos sete meses após o plantio, quando a finalidade não é para rizóforos-semente, geralmente é aos nove meses após o plantio ou quando ocorre a secagem do ramos e folhas da planta (SANTOS, 2002).

2.2 Importância do inhame no Brasil

A cultura do inhame foi introduzida no Brasil das ilhas de Cabo Verde e São Tomé pelos colonizadores no período da colonização européia. É um alimento saudável de primeira grandeza e de muita utilidade para os povos que habitam as regiões tropicais e subtropicais (SANDES, 2014). O Brasil é o segundo maior produtor do inhame na América Latina com cerca de 246 mil t/ano (FAO, 2012).

O inhame desempenha importante papel socioeconômico no Brasil, prestando enorme contribuição ao desenvolvimento rural. A espécie *D. cayennensis*, produz rizóforos de alto valor nutritivo e energético, sendo utilizado na alimentação de todas as classes da sociedade brasileira. O seu uso como alimento também é crescentemente apreciado nos Estados Unidos e na Europa, principalmente na França, onde seu consumo é associado a benefícios medicinais tais como a redução do mau colesterol, ação desintoxicante e antioxidante, aumento das defesas imunológicas, baixo teor calórico, além de ser fonte de cálcio, fósforo, ferro, sódio e potássio, ter baixo teor de gordura e conter todas as vitaminas do complexo B (ASCOM, 2013).

A produção nacional do inhame concentra-se no nordeste do Brasil, e o estado da Paraíba é o principal produtor. Outros destaques são os estados de Pernambuco, Bahia, Maranhão e Alagoas, sendo o estado de Alagoas responsável pela quinta maior produção do país, com 27.172 toneladas (IBGE, 2008).

Em Alagoas, a produção de inhame ocupa uma área de 2.176 km² de terras férteis, o que representa 8% do território alagoano. Trata-se de uma das principais atividades econômica da agricultura familiar na região (SANDES, 2014), que abrange os municípios de Paulo Jacinto, Viçosa, Chã Preta, Quebrângulo, Mar Vermelho, Pindoba e Atalaia, que também concentra a maioria dos empreendedores rurais (SEBRAE, 2013). Sua principal importância em Alagoas são os aspectos sociais, apesar da expansão da cultura ser lenta em função das dificuldades que o manejo do inhame apresenta. Essa situação contrasta com o fato do inhame ser um produto de mercado interno e externo estável, tendo a considerar a demanda e preço (SOUZA; CARMO, 2013). Quando se trata de exportação, é necessário ter um produto de qualidade, evitando assim o mau aspecto e tamanho dos rizóforos e perdas por deterioração biológica durante o armazenamento (SANTOS 2002).

2.3 Problemas fitossanitários

Dentre as doenças que afetam o inhame as que mais se destacam são as fúngicas, que afetam tanto as tubéras, causando podridões, tais como a Podridão verde (*Penicillium sclerotigenum*), Podridão aquosa (*Rhizopus oryzae*) e (*Sclerotium rofsii*), aquelas que se manifestam na parte aérea, conhecidas por Queima das folhas (*Curvularia eragrostidis*) e Antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*), as que afetam o sistema radicular como os nematóides, conhecidas como Meloidoginose (*Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne arenaria*), Casca preta ou Podridão seca (*Scutellonema bradys*, *Pratylenchus coffeae*, *Pratylenchus brachyurys*) e também as doenças ocasionada por vírus, tais como o Mosaico do inhame (Dasheen mosaic virus – DsMV) (KIMATI et al., 2005).

2.4 Queima das folhas do inhame

Também conhecida por pinta-preta, requeima e varíola, é a principal doença foliar do inhame no Nordeste brasileiro, ocasionando perdas de até 70% na produção (KIMATI et al., 1997). De acordo com Boedijn (1933) (apud SUN et al., 2003), essa doença é causada pela

espécie *Curvularia eragrostidis* (Henn.) Meyer, que pertence ao Reino: Fungi, Filo: Ascomycota, Classe: Euascomycetes, Ordem: Pleosporales, Família: Pleosporaceae, Gênero: *Curvularia*. Seus conidióforos são escuros e simples, produzindo os conídios no ápice, apresentando de 3 à 5 células, onde as centrais são mais escuras e as da extremidades hialinas, cujo teleomorfo é a espécie *Cochiobulus eragrostidis* (MENEZES, 1988).

A espécie *C. eragrostidis* já foi isolada de várias espécies hospedeiras pertencentes a diversos gêneros, entre os quais: *Agave*, *Ananas*, *Arachis*, *Coco*, *Digitaria*, *Elaeis*, *Eragrostidis*, *Zea*, *Funcraea*, *Hevea*, *Ipomoeae*, *Oldenlandia*, *Polygala*, *Saccharum*, *Sporobulus*, *Musa*, *Scarpus*, *Pinus*, *Alisycarpus*, etc (ANDRADE, 1988).

O patógeno em condições favoráveis de temperatura e umidade afeta de maneira severa as plantações de inhame. As manchas normalmente iniciam na margem da folha, que vão aumentando de 2 a 3 cm de diâmetro. Os sintomas característicos da doença em folhas jovens são manchas necróticas de coloração marrom-escura, circundada por um halo amarelado, podendo coalescer formando manchas maiores, ele está sempre associado ao *C. gloesporioiedes* (MOURA, 2006).

A ocorrência dessa enfermidade é na parte aérea da planta, atacando ramos, pecíolos e folhas, podendo destruir toda a folhagem e comprometer a plantação (SANTOS, 2007). Como sintoma reflexo ocorre redução no tamanho das tubéras diminuindo sua produtividade.

Os restos culturais e os rizóforos-semente infestadas constituem as principais fontes de inóculo primário de *C. eragrostidis* na cultura do inhame (KIMATI et al., 2005). Contudo, o inóculo também pode ser proveniente de outras plantas hospedeiras, uma vez que essa espécie causa doença em mais de 80 gêneros botânicos (ELLIS, 1966). A disseminação dos esporos de *C. eragrostidis* ocorre principalmente pelo vento, não tendo sido verificada uma influência significativa da irrigação por aspersão na intensidade e no arranjo espacial da queima das folhas em plantios da Zona da Mata de Pernambuco (MICHEREFF; MAFIA; PEDROSA 2000).

2.5 Importância da caracterização morfofisiológica

Os fitopatógenos são originados de diferentes áreas geográficas e hospedeiros e podem apresentar variabilidade morfológica e fisiológica, comportando-se de maneira distinta quanto ao crescimento, esporulação e patogenicidade, dependendo do tipo de substrato utilizado para seu crescimento e o hospedeiro de origem. Além disso, alguns fungos, ao longo de sua vida

podem sofrer mudanças morfológicas, passando de uma forma para outra, tornando-se necessária a caracterização morfofisiológica para a identificação de espécies (MACHADO, 1980).

Essa identificação de fungos sempre foi realizada basicamente pela morfologia de suas estruturas macro e microscópicas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2009). No entanto, os fatores ambientais afetam a morfologia de conídios fazendo com que eles apresentem alta variabilidade morfológica, interferindo na definição precisa da posição taxonômica dos isolados associados aos sintomas, originando relatos convergentes (GARIEPY et al., 2003).

Para se conhecer as propriedades fisiológicas e bioquímicas dos microrganismos, deve-se cultivar as células microbianas em meios de cultura apropriados, que simulem ou melhorem as condições naturais do ambiente em que se desenvolvem, uma vez que existe uma diversidade de necessidades nutricionais e ambientais entre os microrganismos de acordo com a espécie. Assim sendo torna-se necessário estudar e compreender essas exigências (MICROBIOLOGIA MÉDICA, 2007).

O gênero *Curvularia* é composto por mais de 40 táxons que se distinguem por diferenças muitas vezes evidentes na morfologia dos conídios, número de septos e morfologia da colônia (SIVANESAN, 1987), o que torna sua identificação por meio de características morfológicas relativamente simples (FURTADO, 2006). Contudo, a identificação ao nível de espécie é dificultada pelas poucas descrições e ausência de ilustrações em trabalhos mais antigos, bem como pela diversidade de características morfológicas e biométricas dos conídios, causada por diferentes condições de cultura e sobreposição dos valores das medidas apresentadas por diferentes autores (TSUDA; UHEYAMA, 1982; ROZWALKA et al., 2008). Esta situação não impede que a identificação das espécies continue a ser feita numa aproximação fenotípica, com base em características morfológicas.

Portanto, é de fundamental importância o conhecimento de características morfológicas e fisiológicas das colônias, tais como alterações no verso e reverso das colônias, presença ou ausência de pigmentação, aspecto das bordas e da superfície das colônias, além de textura ou consistência, velocidade de crescimento, tipo de topografia (plana, convexa, umbilicada, pregueada,), aspecto (brilhante, opaco, seco, úmido), diâmetro do crescimento micelial, tamanho de conídios e também influência da composição química dos meios de cultura onde se determina a eficiência do crescimento micelial, esporulação e peso seco de fitopatógenos (DHINGRA; SINCLAIR, 1995).

2.6 Manejo da queima das folhas do inhame

As doenças em plantas sempre foram motivo de grande preocupação devido às perdas que causam. Por essa razão, muitas entidades consideram que os fungicidas são insumos importantes e imprescindíveis para a produção mundial de alimentos (KIMATI et al., 1997).

Em relação ao controle da queima das folhas do inhame não existem fungicidas registrados para essa cultura do inhame. Apesar da falta de registro, o controle da doença se baseia em pulverizações com produtos à base de mancozeb, triadimenol e tebuconazole (MICHEREFF; MAFIA; PEDROSA 2000).

A utilização de defensivos na agricultura preocupa tanto os agricultores quanto os consumidores, trazendo como consequências, a contaminação de água, animais, alimentos, solo e do próprio homem (PONTES, 2000).

Segundo Laranjeira (2001) uma alternativa de controle de fitopatógenos é o uso de microrganismos antagonistas, os quais oferecem potenciais respostas para muitos problemas enfrentados na agricultura. Entre os biocontroladores usados contra patógenos, tem-se o fungo *Trichoderma* sp. que é um agente efetivo para o controle de doenças fúngicas de plantas cultivadas (ZUCCHI, 2013). Esse fungo atua através de mecanismos de antibiose, micoparasitismo, competição e indução dos sistemas de defesa da planta (MELO, 1998), podendo atuar diretamente, infectando uma série de fungos fitopatógenos, através da ação de enzimas como quitinases, glucanases e proteases (HARMAN, 2004).

Atualmente, espécies de *Trichoderma* estão entre os agentes de controle biológico mais comercialmente utilizado no Brasil (LOPES, 2009). Formulados como biopesticidas, biofertilizantes e inoculantes de solo (HARMAN, 2004), sendo *T. harzianum* a espécie mais estudada (MARIANO; SILVEIRA; GOMES, 2005).

Para a agricultura, além do controle de patógenos, o uso de *Trichoderma* spp. pode oferecer várias vantagens como: decomposição de matéria orgânica, uma microflora competitiva/deletéria através da colonização da rizosfera e melhoria da saúde e crescimento das plantas (HARMAN, 2004).

Esse gênero apresenta características essenciais para um agente de controle biológico, como ausência de impacto negativo ao meio ambiente, presença de estruturas de reprodução de fácil propagação, principalmente em substratos naturais, capacidade de sobreviver em ambientes desfavoráveis, além de conter populações de patógenos em condições de solo diferentes (VINALE et al., 2008).

O uso de *Trichoderma* spp. já foi documentado para o controle de *Rhizoctonia solani* Kühn, *S. rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Fusarium* spp. e *Pythium* spp. (MELO, 1998). Resultados de Rondón et al., (2007) também mostraram que *T. harzianum* tem elevada atividade antagônica e hiperparasítica contra os patógenos *R. solani* e *Pyricularia grisea* Sacc., sendo mais efetivo no controle do primeiro.

Estudos têm mostrado a importância dos químicos naturais como uma possível fonte de agrotóxicos alternativos biodegradáveis e não-tóxicos sistêmicos. Agrotóxicos de origem vegetal são de baixo custo, de fácil aquisição e uma alternativa para países em desenvolvimento, onde os fungicidas sintéticos são escassos e representam um alto custo aos produtores (AMADIOHA, 2000).

Vários extratos brutos e óleos essenciais de plantas já foram testados sobre fungos fitopatogênicos em diversos trabalhos, com resultados promissores em diversas culturas (PEREIRA et al., 2006). Plantas ricas em taninos, tais como extrato de alho (*Allium sativum* L.), acácia negra (*Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan), gengibre (*Zinziber officinale* Roscoe), melão de São caetano (*Momordica charantia* L.), Ecolife® (produto a base de biomassa cítrica), a manipueira (extrato líquido das raízes de cassava, *Manihot esculenta* Crantz), hortelã pimenta (*Mentha piperica* L.) têm sido relatados como potentes fungicidas e inseticidas naturais, onde os resultados alcançados nessa linha de pesquisa têm-se mostrado promissores para uma utilização prática no controle de doenças de plantas (FURTADO, 2006; SANTOS et al., 2007; SOARES, 2009).

O alho (*A. sativum* L.) é um bulbo pequeno de cheiro forte e característico, perene, pertencente à família Liliaceae, é originária da Ásia Central, que é largamente utilizado em diferentes culturas, e tem sido usado na medicina tradicional desde a mais remota antiguidade, para evitar ou curar numerosos males. A maior concentração de fitoquímicos terapêuticos encontra-se nos bulbos, popularmente conhecidos como dentes de alho. Dentre estes compostos podemos citar ajoeno (ajocisteína), alicina e tiosulfinatos, saponinas (gitonina F, eubósido B), escordinina, ácidos fenólicos com possível atividade biológica antibiótica, antifúngica, antibacteriana e antiviral (LORENZI; MATOS, 2002).

No controle de doenças de plantas, o efeito de alguns extratos vegetais, como o de alho, é conhecido mundialmente, obtendo como resultados a inibição do crescimento bacteriano e fúngico de algumas espécies. Fungos do gênero *Curvularia* e *Alternaria* apresentaram menor crescimento da colônia, com valores de 30 a 75% de inibição, quando

cultivados em meio contendo extrato de alho nas concentrações de 1000 a 10.000 ppm (BARROS; OLIVEIRA; MAIA, 1995).

O melão de São caetano (*M. charantia* L.) é uma espécie trepadeira, comum em terrenos abandonados, tem valor ornamental, alimentar e medicinal. O fruto é oblongo e assemelha-se a um pepino pequeno, o fruto novo é verde que muda para uma tonalidade alaranjada quando maduro (BEZERRA et al., 2002).

A cultura da mandioca é matéria-prima para muitos produtos de uso geral. Porém, como em qualquer atividade produtiva, também gera resíduos culturais e subprodutos derivados de processos industriais, como a manipueira (WOSIACK; CEREDA, 2002).

A manipueira, que em tupi-guarani significa “o que brota da mandioca”, é um líquido de aspecto leitoso, de cor amarelo-claro oriunda das raízes da mandioca, por ocasião da prensagem da mesma, com vistas à obtenção da fécula ou farinha de mandioca que, fisicamente, se apresenta na forma de suspensão aquosa e, quimicamente, como miscelânea de compostos, como goma, açúcares, proteínas, linamarina, derivados cianogênicos, substâncias e sais minerais diversos (CEREDA, 2001; WOSIACKI; CEREDA, 2002).

Esta característica da manipueira consiste em sério problema ambiental quando lançada diretamente em rios, principalmente se considerados os pequenos cursos d’água, onde comumente acontecem os despejos dos resíduos líquidos de indústrias que utilizam raízes de mandioca como matéria-prima (CEREDA, 2001).

Segundo Silva (2013), a composição química da manipueira sustenta também a potencialidade do composto como adubo, haja vista sua riqueza em nitrogênio, fósforo e, principalmente, em potássio. Por outro lado, a presença de cianetos explica os efeitos nematicida e inseticida inerentes à manipueira.

Conhecida como hortelã pimenta, menta e hortelã-apimentada, a espécie *M. piperita* é produtora de óleo essencial com alta concentração de mentol e flavonóides, cujas aplicações nas indústrias farmacêuticas conferem grande importância econômica e também apresenta grande potencial antifúngico e antibacteriano (MARTINS et al., 1998).

Ecolife[®] é um produto alternativo composto por bioflavonóides cítricos (vitamina P), ácido ascórbico (vitamina C) e fitoalexinas cítricas que podem exercer efeito protetor em diversas culturas. É produzido comercialmente por Quinabra S. A. (Química Natural Brasileira São José dos Campos - SP, Brasil).

Produtos a base de biomassa cítrica, como o Ecolife[®], têm sido testados no controle alternativo de doenças de plantas, sendo estudado os seus efeitos “in vitro” e “in vivo” no

controle da mancha de phoma, causada por *Phoma costarricensis* no cafeeiro (BARGUIL et al., 2005), controle de doença de pós-colheita causada por *Rhizopus* na cultura do morangueiro (RÖDER et al., 2003), e sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. (VILAS-BÔAS et al., 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local do experimento

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia e casa-de-vegetação do Centro de Ciências Agrárias (CECA) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL), localizado no município de Rio Largo-AL, durante o período de agosto de 2012 a novembro de 2013.

3.2 Isolamento de *C. eragrostidis* e manutenção das culturas

O isolado foi obtido a partir de folhas com sintomas característicos da doença, coletadas em Paulo Jacinto- AL. Após lavagem do material com água e sabão, foram efetuados pequenos cortes na região de transição da lesão, posteriormente procedendo a desinfestação superficial em álcool 70% durante 30 segundos e em hipoclorito de sódio a 1,5% por um minuto, sendo em seguida lavados por duas vezes consecutivas em água destilada esterilizada (ADE). O material foi plaqueado em meio BDA (batata-dextrose-ágar), com o auxílio de uma pinça flambada. As placas foram vedadas e após sete dias de incubação em condições controladas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas), as colônias que apresentaram crescimento micelial padrão e sem contaminação visual, foram utilizadas para manutenção do isolado visando estudos posteriores.

Foram retirados discos das margens de colônias jovens dos isolados cultivados em meio de cultura e transferidos para frascos de vidro contendo água destilada esterilizada (ADE), sendo armazenados à temperatura ambiente (CASTELLANI, 1967) e em tubos de ensaio contendo BDA (batata-dextrose-ágar), armazenados a 4°C em geladeira.

3.3 Teste de patogenicidade, reisolamento e identificação do patógeno

Para a avaliação da patogenicidade foram utilizadas folhas de inhame (*D. cayennensis*) sadias e desinfestadas superficialmente com água e sabão. A partir de colônias cultivadas por 5 dias, retirou-se dos bordos das colônias discos de BDA (batata-dextrose-ágar), contendo o crescimento micelial do patógeno. Os discos de micélio foram depositados sobre as folhas previamente desinfestadas e feridas com uma agulha em dois pontos equidistantes. Para o

tratamento controle (testemunha), foram utilizados discos de ágar sem o crescimento micelial, depositados na superfície foliar. As folhas inoculadas e testemunha foram mantidas em bandejas plásticas, em condições de laboratório, por 12 dias, cobertas com sacos plásticos, internamente umedecidos com água destilada esterilizada (ADE) (Figura 1). As folhas que apresentaram sintoma típico da doença foram utilizadas para reisolamento do patógeno em placas de Petri contendo meio BDA, sob condição ambiente.

Figura 1 – Folhas de inhame submetidas ao teste de patogenicidade de *Curvularia eragrostidis*.



FONTE: Autora, 2014.

3.4 Obtenção de produtos alternativos

O óleo de hortelã-pimenta (*M. piperica* L.) foi obtido em estabelecimento comercial de Maceió. O Ecolife® foi fornecido por (Quinabra S.A.), São José dos Campos - SP, Brasil.

Para obtenção dos extratos vegetais de alho (*A. sativum* L.) e melão de São caetano (*M. charantia* L.), foram coletadas 10g de material vegetal e triturados em um liquidificador com 100mL de água destilada esterilizada (ADE). A solução foi filtrada em gaze wathman nº1, colocados em erlenmeyers cobertos com papel alumínio, formando a solução padrão. Os extratos vegetais foram preparados no momento da aplicação.

A manipueira é um subproduto da farinha de mandioca (*Manihot esculenta* Crant), onde se obtêm um líquido esbranquiçado, o qual foi utilizado, obtido em casa de farinha, no município de Satuba-AL.

3.5 Influência de meios de cultura sobre o crescimento micelial de *C. eragrostidis*

Foram utilizados os seguintes meios de cultura: BDA (200g de batata, 20g de dextrose 17g de ágar, 1000mL ADE); LCA (200mL de leite de coco, 20g de dextrose, 17g de ágar, 800mL ADE); CA (200g de cenoura, 17g de ágar, 1000mL ADE); ADA (100g de aveia, 20g de dextrose, 17g de ágar, 1000mL ADE); FDI (100g de folhas de inhame, 20g de dextrose, 17 de ágar, 1000mL ADE).

Das culturas puras de *C. eragrostidis*, com 7 dias de idade foram removidos discos de micélio com 6 mm de diâmetro, depositados no centro de cada placa de Petri, contendo os diferentes meios. Em seguida o patógeno foi incubado à 25 + 2°C e fotoperíodo de 12 horas, durante 7 dias.

A taxa de crescimento micelial (TCM) foi avaliada no sétimo dia, pela medição do diâmetro da colônia em dois sentidos opostos, com o auxílio de uma régua milimetrada e cálculo da média por placa.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 5 repetições sendo as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Estes dados foram analisados no programa ASSISTAT versão 7.7 (SILVA, 2014).

3.5.1 Caracterização morfofisiológica de *C. eragrostidis*

A caracterização do isolado foi realizada por meio de observações macroscópicas e microscópicas.

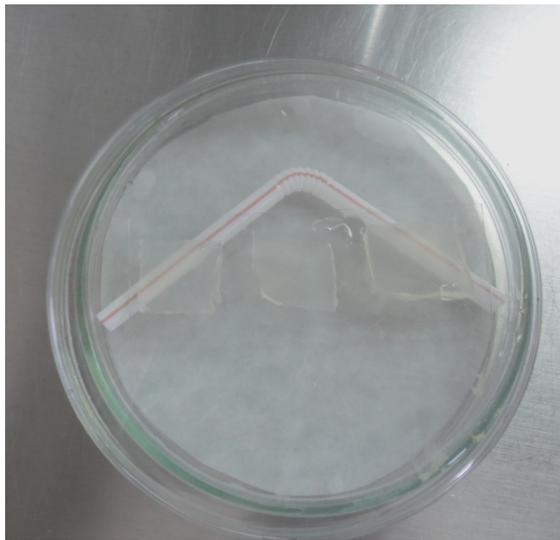
As observações macroscópicas foram realizadas em colônias cultivadas a 28°C, por sete dias, em placas de Petri com meio BDA (batata-dextrose-ágar), CA (cenoura-ágar) e LCA (leite de coco-dextrose-ágar), selecionados por apresentarem um bom crescimento micelial do fungo.

Após o cultivo, as placas com crescimento micelial foram fotografadas. Analisaram-se aspecto do micélio, forma dos bordos, coloração da colônia, reverso da colônia, presença ou ausência de micélio sob o meio de cultura e também presença ou ausência de conídios.

As observações microscópicas foram realizadas através de microcultivo (KERN; BLEVINS, 1999) em meio BDA a 28°C por até 14 dias (Figura 2). As lamínulas foram retiradas, colocadas sobre uma lâmina e coradas com lactofenol (aproximadamente 50 µL). Em seguida, os conídios foram visualizados ao microscópio (40X), fotografados com câmera

digital, e mensurados quanto ao comprimento e largura de 50 conídios do isolado. Calcularam-se as médias das dimensões dos conídios e estes valores foram utilizados para a identificação da espécie baseada em chave dicotômica para espécies de *Curvularia* (SIVANESAN, 1987).

Figura 2 – Microcultivo de *Curvularia eragrostidis*.



Fonte: Autora, 2014.

3.5.2 Influência de meios de cultura e regimes de luz sobre a esporulação de *C. eragrostidis*

Utilizou-se os meios de cultura BDA, CA e LCA, selecionados anteriormente por apresentarem melhor crescimento micelial. Discos de micélio com sete dias de idade foram depositados no centro de placas de Petri, contendo os meios. Em seguida o patógeno foi incubado a 25 +2°C nas condições de escuro contínuo, claro contínuo, e luz alternada (12 horas de claro e 12horas de escuro) em câmara de germinação tipo BOD. Aos oito dias de incubação foram avaliados a produção de conídios.

Para a determinação da produção de conídios, preparou-se uma suspensão de esporos, adicionando-se 20 mL de água destilada esterilizada em cada placa de Petri, para facilitar a remoção do micélio, mediante o uso de escova de cerdas macias. O material foi filtrado em duas camadas de gaze esterilizada, e a concentração determinada em câmara de Neubauer, com microscópio óptico, obtendo-se uma média de duas leituras para cada repetição dos tratamentos.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com 9 tratamentos, em arranjo fatorial 3 x 3, representado por três meios de cultura, três regimes de luz (claro contínuo, escuro contínuo e luz alternada de 12 horas) e 5 repetições. As médias dos dados obtidos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram analisados no programa ASSISTAT versão 7.7 (SILVA, 2014).

3.5.3 Influência de meios de cultura sobre a produção de massa micelial de *C. eragrostidis*

Para a determinação do peso seco, os isolados *C. eragrostidis* foram cultivados individualmente em Erlenmeyers, contendo 250mL dos meios de cultura líquidos BD (batata-dextrose), LD (leite de coco-dextrose) e C (cenoura), mantidos com três agitações diárias. Foram adicionados aos meios, três discos de micélio com 6 mm de diâmetro retirados de culturas jovens do isolado e incubados por sete dias (Figura 3). Ao final do período de incubação, as culturas foram filtradas e a massa micelial coletada foi depositada em caixas de papel alumínio. Posteriormente a massa micelial foi transferida para estufa à 60°C por 48 horas. Ao final deste período, foi determinado o peso seco da massa micelial do isolado, o qual foi expresso em gramas.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com 3 tratamentos e 8 repetições. As médias dos dados foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram analisados no programa ASSISTAT versão 7.7 (SILVA, 2014).

Figura 3 – Erlenmeyres contendo meios líquidos BD (batata-dextrose), LD (leite de coco-dextrose) e CD (cenoura-dextrose) respectivamente, com três discos de micélio de *Curvularia eragrostidis*.



Fonte: Autora, 2014.

3.6 Avaliação in vitro dos produtos naturais sobre o crescimento micelial de *C. eragrostidis*

Os produtos naturais manipueira e Ecolife[®], o óleo essencial de hortelã pimenta, extratos vegetais alho e melão de São caetano, o fungo *Trichoderma* sp. e o fungicida mancozeb foram adicionados ao meio de cultura BDA, fundente (45-50° C), que foi vertido em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, sendo usadas as seguintes combinações da concentração de produto/fungo ou fungicida/fungo: manipueira (40%); extrato de alho (20%); extrato de melão de São caetano (20%); óleo de hortelã pimenta(100µL); Ecolife[®] (20%); fungo *Trichoderma* sp. (10^8 conídios.mL⁻¹); fungicida mancozeb (2,0g.L⁻¹) e para a testemunha (BDA). Todos os produtos foram esterilizados em luz UV por 30 minutos antes de serem adicionados ao meio autoclavado, segundo metodologia descrita por Barguil et al. (2005).

No centro de cada placa foi depositado um disco de meio BDA, de 0,6 cm de diâmetro, contendo micélio jovem retirado das bordas de colônias do fungo. Após a incubação por sete dias à temperatura de 28°C e fotoperíodo de 12 horas, determinou-se o diâmetro médio das colônias tomado no reverso das placas de Petri, através da medição em dois sentidos diametralmente opostos, e por comparação com o crescimento das colônias nas

placas testemunhas, que receberam o meio de cultura sem o produto/fungicida. Foi calculada a percentagem de inibição do crescimento micelial (P.I.C.) segundo Edginton et al. (1971) :

$$\text{PIC} = \frac{\text{cresc. test.} - \text{cresc. trat}}{\text{cresc. test.}} \times 100$$

Cresc. Test. = Crescimento micelial da testemunha;

Cresc. Trat. = Crescimento micelial do tratamento.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 8 tratamentos e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível 5% de probabilidade. Os dados foram analisados no programa ASSISTAT versão 7.7 (SILVA, 2014).

3.6.1 Avaliação do efeito fungicida

Para verificar o efeito fungicida do princípio ativo presente em cada produto testado, os discos de inóculo a partir dos quais não houve crescimento micelial, foram transferidos, após cinco dias para placas de Petri contendo BDA, sem a presença do agente inibidor. Após 72 horas, foi avaliado quanto à presença ou não de crescimento fúngico junto ao disco.

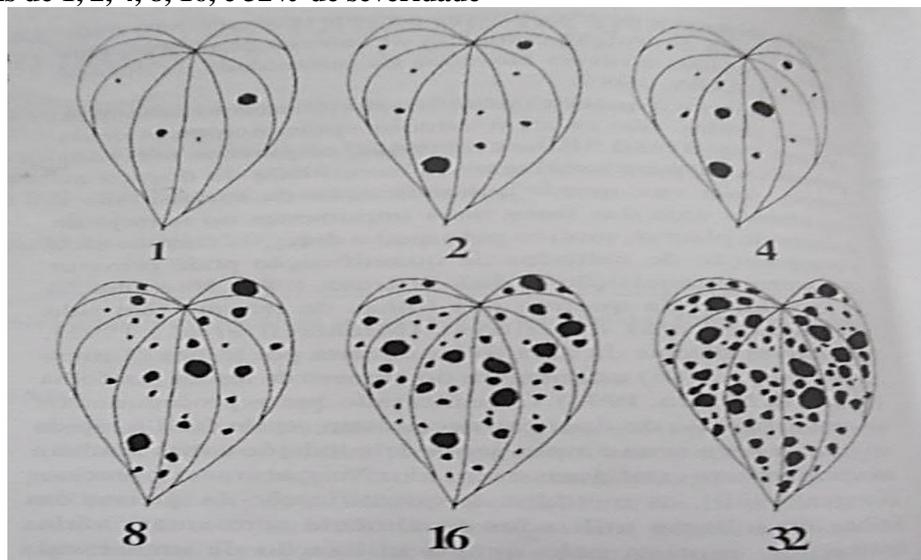
3.7 Avaliação in vivo de produtos naturais no controle da queima das folhas em inhame (*C. eragrostidis*)

Túberas de inhame cv. Da Costa (*D. cayennensis*) foram plantadas em vasos (2L) contendo substrato (Bioplant) esterilizado por autoclave e após desenvolvimento vegetativo (80 dias após o plantio) foram pulverizadas com os tratamentos: manipueira (40%); extrato de alho (20%); extrato de melão de São caetano (20%); óleo de hortelã pimenta(100µL); Ecolife® (20%); o fungo *Trichoderma sp.* (10^8 conídios.mL⁻¹); fungicida mancozeb (2,0g.L⁻¹) e para a testemunha (água). Todos os produtos naturais foram esterilizados em luz UV por 30 minutos antes de serem pulverizados. Para todas as soluções, foram utilizadas como solvente água destilada esterilizada (ADE) e adicionadas espalhante adesivo Tween 20 (polioxyethylene sobitan mono-oleate, da marca Vetec), 0,1mL para cada 100mL de solução, antes das pulverizações.

Dois dias após o tratamento com os produtos, as plantas foram inoculadas com uma suspensão do patógeno (5ml/planta), na concentração de $(1,7 \times 10^6 \text{ conídios.mL}^{-1})$.

O experimento foi avaliado 15 dias após a inoculação do patógeno, determinando-se a severidade da doença com base em escala diagramática estabelecida por Michereff; Mafia; Pedrosa (2000), indicando níveis de 0, 1, 2, 4, 8, 16, 24 e 32% de severidade (Figura 4), onde foram avaliadas a severidade de 24 folhas/planta.

Figura 4 – Escala diagramática da queima das folhas de inhame (*Dioscorea cayennensis*), indicando níveis de 1, 2, 4, 8, 16, e 32% de severidade



Fonte: Michereff; Mafia; Pedrosa, 2000.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 8 tratamentos e 7 repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Os dados foram analisados no programa ASSISTAT versão 7.7 (SILVA, 2014).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Teste de patogenicidade, reisolamento e identificação do patógeno

As folhas inoculadas com o patógeno apresentaram sintomas iniciais no quarto dia após a inoculação. A testemunha permaneceu sadia. As manchas nas folhas apresentaram coloração marrom circundada por um halo amarelo, típicas de infecções causadas por *Curvularia eragrostidis* (Figura 5 A). O patógeno foi reisolado em meio BDA (batata-dextrose-ágar).

O isolado foi identificado como *C. eragrostidis* com base nas características morfológicas das colônias. A cultura do patógeno apresentou colônias circulares de aspecto cotonoso e de coloração escura com a presença de grande quantidade de conidióforos e conídios.

Figura 5 – (A) Folhas de inhame (*Dioscorea cayennensis*) com sintomas de queima da folhas (*Curvularia eragrostides*), após inoculação com o isolado; (B) *C. eragrostidis*; (C) Conídios e conidióforos de *C. eragrostidis*.



Fonte: Autora, 2014.

4.2 Influência de meios de cultura sobre o crescimento micelial de *C. eragrostidis*

São apresentadas na Tabela 1, as médias de crescimento micelial de *C. eragrostidis* após sete dias de incubação, comparadas através do teste de Tukey, verificou-se que os meios de cultura não apresentaram diferença significativa em relação ao crescimento do referido fungo, embora LCA tenha induzido uma pequena diferença no crescimento micelial aos demais meios.

Resultados semelhantes foram obtidos com Brito (2006), ao estudar a fisiologia e a variabilidade genética de *C. eragrostidis* em inhame, verificou que os melhores resultados dos isolados desse fungo, foi obtido no meio de cultura BDA e em seguida CA.

Tabela 1 – Médias de crescimento micelial de *Curvularia eragrostidis* em diferentes meios de cultura após sete dias.

Meios de Cultura	Crescimento micelial (cm)
LCA	8,24 a
BDA	8,13 a
CA	7,88 a
FDI	7,46 a
ADA	7,01 a
Teste F = 1,109^{ns}	
CV(%) 13,92	Erro padrão = 0,2174

^{ns} - não significativo. Médias de 5 repetições por tratamento. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Segundo Menezes e Silva-Hanlin (1999), quando um fungo cresce bem em um substrato e não em outro, acredita-se que metabólitos específicos estejam envolvidos. Os autores asseguram que crescimento micelial é um processo complexo no qual muitos componentes influenciam o desenvolvimento e diferenciação celular. Entre os componentes, destaca-se o substrato do qual o fungo retira seus nutrientes a depender de suas exigências nutricionais para os processos metabólicos. Em laboratório, os meios de cultura exercem esta função.

Avaliando *Cryptosporiopsis perennans*, Bogo et al. (2008) observou que a o meio V8 proporcionou maior crescimento micelial para todos os isolados e o menor desenvolvimento micelial foi observado no meio de cultura BDA. Leão et al. (2012) estudando diversos meios de cultura sobre o crescimento micelial de *Ascochyta cucumis*, verificou que os meios que mais favoreceram o crescimento micelial do fungo foram a folha de melancia + CaCO₃, folha de melancia e BDA modificado.

A alta concentração de carboidratos existentes nos meios de cultura podem estimular mais o seu crescimento micelial e não a esporulação (MOORE-LANDECKER, 1972) e os

meios com baixa concentração de carboidratos, normalmente estimulam a esporulação (DHINGRA; SINCLAIR, 1995).

4.2.1 Caracterização morfofisiológica de *C. eragrostidis*

Nas observações macroscópicas, as características culturais do isolado de *C. eragrostidis* estudado, variaram de acordo com o substrato empregado, mas em geral as colônias apresentaram esporulação característica, ou seja, distribuída em todo o perímetro central da placa, micélio de coloração cinza esverdeado a verde musgo, com superfície de contorno lisa e margens brancas com aspecto esfiapado. A Tabela 2 contém uma descrição mais detalhada dos diferentes aspectos observados nas colônias nos diferentes meios.

Tabela 2 – Caracterização cultural de *Curvularia eragrostidis* em meios de BDA, CA e LCA.

Meio de Cultura	Características da colônia	
BDA		<p>Colônia aveludada, coloração verde musgo, com micélio denso, superfície de contorno lisa, de margem esbranquiçada e aspecto esfiapado. Esporulação abundante, de coloração verde escuro. Meio não pigmentado</p>
CA		<p>Colônia cotonosa, coloração cinza com centro da colônia esverdeado e com formação de setores, com micélio denso, superfície de contorno irregular. Sem pigmentação. Presença de conídios no centro da placa</p>
LCA		<p>Colônia aveludada, coloração verde escuro com margens cinza, superfície de contorno lisa, de margem esbranquiçada, reverso pigmentado e presença de conídios.</p>

As diferenças de características apresentadas pode ser atribuída às próprias condições de cultivo, composição do meio, pH, temperatura de incubação, luminosidade, aeração, bem como as características genéticas do isolado estudado.

Nas observações microscópicas, os conídios apresentaram-se ovóides, com três septos, um tipicamente mediano com uma banda mais escura, células centrais de coloração marrom e células das extremidades mais claras, típicos da espécie conforme descrito anteriormente por Sivanesan (1987) (Figura 6). Apresentou crescimento micelial de 8,13 cm. As medidas de comprimento e largura dos conídios variaram de 15,96 – 30,16 (21,59) μm x 12,00 – 19,10 (14, 91) μm .

Figura 6 – Conídios de *Curvularia eragrostidis* em meio BDA, isolados de folhas do inhame.



Fonte: Autora, 2014.

As medidas dos conídios observadas neste trabalho aproximaram-se dos valores observadas por Ellis (1971) e Matsushima (1983), para a espécie. Resultados semelhantes foram descritos por Moraes (2009).

4.2.2 Influência de meios de cultura e regimes de luz sobre a esporulação de *C. eragrostidis*

Quanto à esporulação do fungo foram constatadas diferenças significativas do isolado de *C. eragrostidis* (Tabela 3). O meio de BDA apresentou diferenças dos meios CA e LCA, nos regimes de luz alternada e de claro contínuo, não diferindo no regime de luz escuro contínuo. Os meios de cultura LCA e CA não apresentaram diferenças significativas entre si em todos os regimes de luz testados, as maiores taxas de esporulação nesses meios foram verificadas em escuro contínuo com $2,24 \times 10^6 \text{ con.mL}^{-1}$ e $2,02 \times 10^6 \text{ con.mL}^{-1}$, respectivamente.

Os maiores índices de esporulação de *C. eragrostidis* ocorreram no meio de BDA, no regime de luz alternada e escuro contínuo, com médias de $2,84 \times 10^6 \text{ con.mL}^{-1}$ e de $2,42 \times 10^6 \text{ con.mL}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 3 – Médias da esporulação de *Curvularia eragrostidis* em diferentes meios de cultura e regimes de luz (10^6 com.mL⁻¹).

Meios de cultura	Regimes de Luz		
	Luz Alternada	Claro Contínuo	Escuro Contínuo
BDA	2,840 a A	1,906 a B	2,420 a AB
CA	1,808 b AB	1,442 b B	2,002 a A
LCA	1,868 b AB	1,594 b B	2,232 a A
Teste F = 2,144^{ns}			
CV(%) 32,56		Erro padrão= 0,2087	

^{ns} - não significativo. Médias de 5 repetições por tratamento. Médias seguidas de mesma letra (Maiúscula, na linha e minúscula, na coluna) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Observações realizadas por Brito (2006) com isolados de *C. eragrostidis* utilizando diferentes meios de cultura e luminosidade, indicaram maiores índices de esporulação para a maioria dos isolados no meio BDA, em regime de escuro contínuo, concordando com os resultados observados nesse trabalho.

Em estudos de avaliação de diferentes meios na esporulação de *Scytalidium lignicola*, agente causal de podridão em raízes de mandioca, Carnaúba et al. (2007) afirmam que o meio de cultura no qual obteve maior esporulação foi o BDA, já o LCA ocorreu uma menor esporulação.

Devido a esporulação ser um processo de diferenciação mais específico, no qual estão envolvidas as células reprodutivas, elas são afetadas por modificações morfológicas, fisiológicas e bioquímicas. Considerando que os dois processos fisiológicos: taxa de crescimento micelial e a esporulação do isolado de *C. eragrostidis* nos meios estudados, foram variáveis entre os meios, as exigências do fungo para realizar estes dois processos são diferentes, sendo comum para diversos fungos. De acordo com a composição do meio, os isolados se diferenciaram quanto à taxa de crescimento micelial e esporulação, sendo que o meio que favoreceu a melhor taxa de crescimento micelial para um determinado isolado não necessariamente foi o melhor meio para a produção de conídios.

Segundo Tuite (1969); (Dhingra; Sinclair, 1995), um determinado meio que favoreça a taxa de crescimento micelial para um patógeno não necessariamente será o melhor meio de cultura para a produção de conídios. Portanto, esta interação significativa entre meio e isolado

é comum em estudos de nutrição de patógenos, onde a composição do meio de cultura determina a quantidade e qualidade do crescimento micelial e esporulação (DHINGRA; SINCLAIR, 1995). A concentração mínima de nutrientes que permite o crescimento micelial é muitas vezes insuficiente para produção de esporos, no entanto alguns meios naturais são mais favoráveis que outros para a esporulação de fungos (VERAS et al., 1997).

4.2.3 Influência de meios de cultura sobre a produção de massa micelial de *C. eragrostidis*

Encontram-se na Tabela 4 os dados médios relativos ao crescimento de *C. eragrostidis* após o cultivo durante sete dias, em diferentes meios de cultura líquidos.

De acordo com o teste de médias aplicado, o meio LC proporcionou maior produção de massa micelial de *C. eragrostidis*, revelando-se significativamente superior a todos os outros. O meio BD e C não diferiram estatisticamente entre si e produziram uma massa micelial bem abaixo daquelas produzidas em LC. Os resultados obtidos sugerem que o meio mais adequado para o cultivo do referido fungo visando à obtenção de massa micelial seja o LC.

Tabela 4 – Médias para influência dos meios de cultura líquidos no crescimento de *Curvularia eragrostidis*, aos sete dias de incubação.

Meios de Cultura	Peso seco (g)*
BD	0,2512 b
C	0,4100 b
LC	2,1350 a
Teste F = 27,83**	
CV(%) 60,10	Erro padrão= 0,2087

** Significativo ao nível de 1% de probabilidade. Médias de 8 repetições por tratamento. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

No estudo para avaliar o peso seco de *C. eragrostidis*, Leite et al. (2013) relatam que o meio BD proporcionou melhores condições nutricionais aos isolados, e o meio C apresentou os menores índices de peso seco em todos os isolados testados. Alexandre et al. (2009) estudando a influência do meio líquido sobre os isolados de *Chalara paradoxa* sobre o peso

seco, verificaram que a maioria dos isolados utilizados com o meio BD proporcionou maior peso seco, e os meios C, Czapek e Armstrong mostraram-se inadequados para o cultivo. Avaliando o peso seco de *Colletotrichum musae*, Couto e Menezes (2004) afirmam que as combinações de dextrose/peptona e sacarose/peptona foram as que induziram maiores médias de peso seco da massa micelial, 5,3mg e 5,4 mg, respectivamente.

4.3 Avaliação in vitro dos produtos naturais sobre o crescimento micelial de *C. eragrostidis*

Os efeitos de produtos naturais e fungicida sobre a inibição do crescimento micelial de *C. eragrostidis* podem ser observados na Tabela 5.

Tabela 5 – Percentagem de inibição de crescimento micelial de *Curvularia eragrostidis*.

TRATAMENTOS	PIC (%)
Ecolife [®] (20%)	100 a
Manipueira (40%)	100 a
Óleo de hortelã (100 µL)	91 ab
<i>Trichoderma</i> sp. (10 ⁸ con.mL ⁻¹)	68 bc
Extrato de alho (20%)	54 cd
Extrato de melão de São caetano (20%)	45 cd
Fungicida mancozeb (2,0g.L ⁻¹)	35 d
Testemunha	0 e
Teste F = 33,92^{**}	
CV(%)21,89	Erro padrão= 5,2625

^{**} Significativo ao nível de 1% de probabilidade. Médias de 5 repetições por tratamento. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

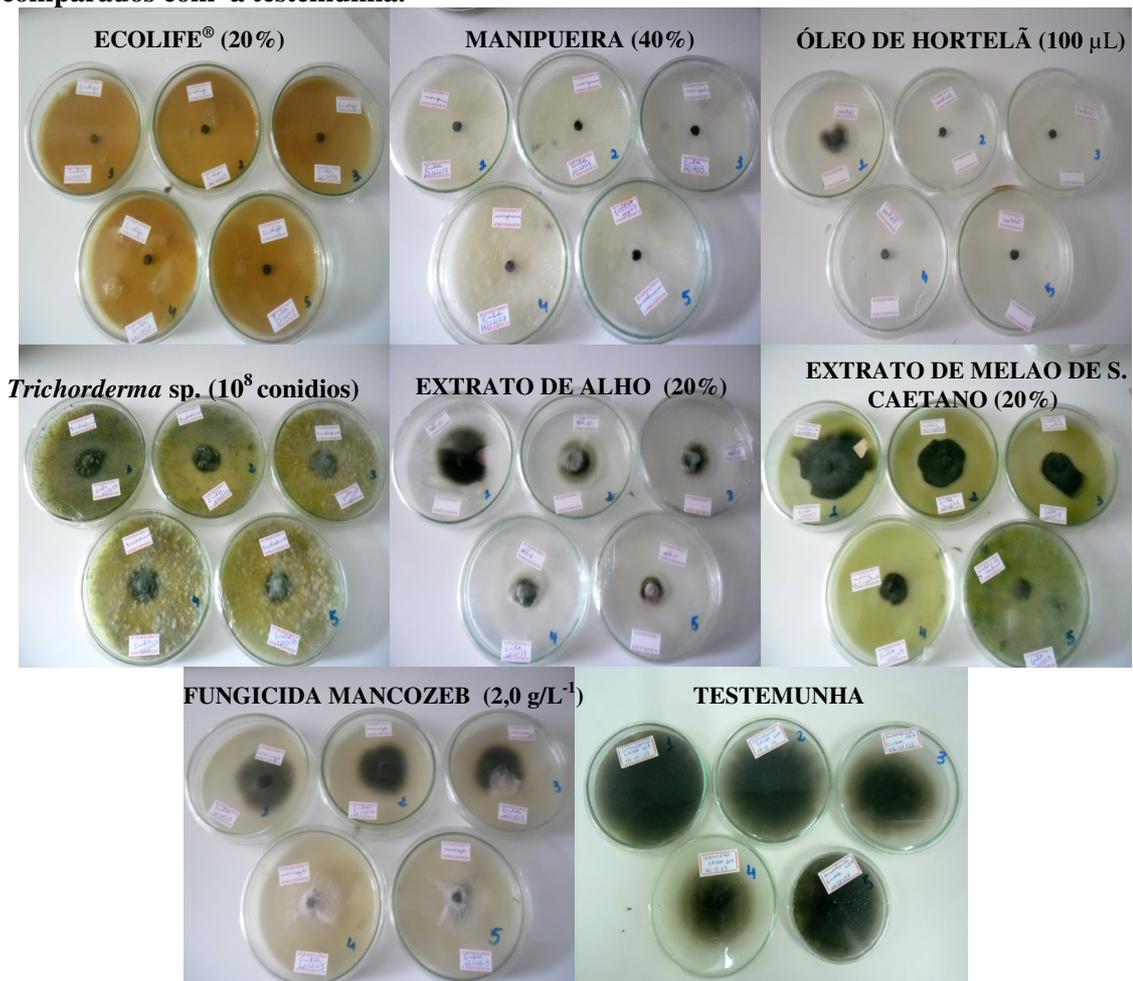
Houve diferença significativa entre os tratamentos. Todos os tratamentos deferiram da testemunha, inibindo em maior ou menor grau o crescimento do fungo. Os produtos naturais Ecolife[®] e manipueira inibiram em 100% o crescimento micelial de *C. eragrostidis*, não

diferindo significativamente ao nível de 1% de probabilidade, do óleo de hortelã, que proporcionou uma inibição de 91%, constituindo os melhores tratamentos.

O fungo *Trichoderma* sp., que não diferiu do óleo de hortelã, do extrato de alho e do extrato de melão de São Caetano, mas diferiu significativamente do fungicida mancozeb, inibiu o crescimento micelial do fungo em 68%. Inibições de 54%, 45% e 35% respectivamente foram proporcionadas pelos extratos de alho, melão de São caetano e pelo fungicida mancozeb que não apresentaram diferenças significativas entre si (Tabela 5).

A inibição total ou parcial do PIC (percentagem de inibição de crescimento) demonstra a existência de compostos de ação antifúngica nos produtos testados (Figura 7).

Figura 7 – Inibição do Crescimento micelial de *Curvularia eragrostidis* in vitro na presença de Ecolife® (20%), manipueira (40%), óleo de hortelã (100 µL), *Trichoderma* sp. (10^8 conídios.mL⁻¹), extrato de alho (20%), extrato de melão de São caetano (20%), fungicida mancozeb (2,0 g/L⁻¹), comparados com a testemunha.



Fonte: Autora, 2014.

Alguns Autores, pesquisando sobre o efeito de substâncias naturais e fungos antagonistas sobre o desenvolvimento de vários fungos fitopatogênicos, corroboram com os resultados encontrados nesse trabalho: Almeida et al. (2013), observaram inibição do crescimento micelial, inibição de taxas de esporulação e de germinação de esporos de *C. eragrostidis* e *Phyllostica* sp., ao analisarem quatro extratos vegetais, entre eles a manipueira e o juá a partir da concentração de 5% e concluíram que as inibições aumentaram para valores próximos a 100% em concentrações acima de 25%.

A ação antifúngica de óleos e extratos vegetais também foi observada por Barbosa (2011), que testando o efeito de óleos essenciais, extrato vegetal e fungicida sobre o crescimento micelial de *Lasioidiplodia theobromae*, verificou que o Ecolife® e o óleo de citronela nas concentrações 1,0; 1,5; 2,0% inibiram 100% o crescimento micelial. Já os tratamentos com óleo de nim nas concentrações 1,0; 1,5 e 2,0%, extrato de alho nas concentrações 2,5; 5,0 e 7,5% e fungicida mancozeb inibiram parcialmente o crescimento micelial do patógeno, observando seu efeito fungicida.

Silva (2007), estudando a percentagem de inibição “in vitro” de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* na presença dos óleos de citronela e eucalipto citriodora (1,25; 2,5; 3,75 e 5%) e o extrato de cravo (15 e 20%) e Ecolife® (0,5; 0,75 e 1%) inibiram o crescimento micelial em 100%. Enquanto os óleos de cravo (3,75 e 5%), pimenta-macaco (1,25; 2,5; 3,75 e 5%), os extratos de cravo (5 e 10%), alho e canela (5; 10; 15 e 20%) e Ecolife® (0,25%) inibiram parcialmente o crescimento micelial do fungo.

Nunes (2011), avaliando a percentagem de inibição “in vitro” de *Colletotrichum gloeosporioides* na presença de extratos de alho na concentração de 20% e fungicida mancozeb nas concentrações de 1,25; 1,75; 2,25g.L⁻¹ constataram a inibição de 100% de desenvolvimento micelial do fungo. O extrato de melão de São Caetano nas concentrações de 10, 15 e 20%, Ecolife® 20% proporcionaram inibições de aproximadamente 50%.

Ethur et al. (2005) observaram a inibição no crescimento “in vitro” de *Sclerotinia sclerotium* proporcionada por isolados de *Trichoderma virens*. Remuska e Pria (2007) observaram que *Trichoderma* sp. exerceu controle significativo sobre *Sclerotinia sclerotium*. Santos et al. (2012) também verificaram ação do *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*, onde ocasionaram melhor potencial hiperparasita. Silva et al. (2008) observou efeito significativo de *Trichoderma* spp. na inibição do crescimento micelial de *Phytophthora citrophthora*, sendo que *Trichoderma stromaticum* apresentou

maior antagonismo. Martins-Corder e Melo (1998) selecionou sete isolados de *Trichoderma* os quais inibiram completamente o crescimento micelial de *Verticilium dahliae*.

Alguns pesquisadores justificam a ação desses produtos naturais baseados na composição bioquímica dos produtos. De acordo com Ponte (1999), a manipueira que é um subproduto ou resíduo obtido após a prensagem das raízes da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz), apresenta uma variada composição química, onde nela pode ser encontrados: goma, glicose e outros açúcares, proteínas, macronutrientes (N, P, K), cálcio, micronutrientes, além de enxofre e compostos cianogênicos que justificam sua ação nematicida, fungicida, inseticida, herbicida etc.

De acordo com as informações do fabricante (QUINABRA, 2005), Ecolife[®] é um mix de compostos fenólicos (bioflavonóides, fitoalexinas e polifenóis) e ácidos orgânicos (ascórbico láctico e cítrico). Possui modo de ação no controle de doenças de plantas, sanitização de frutos e regulação metabólica.

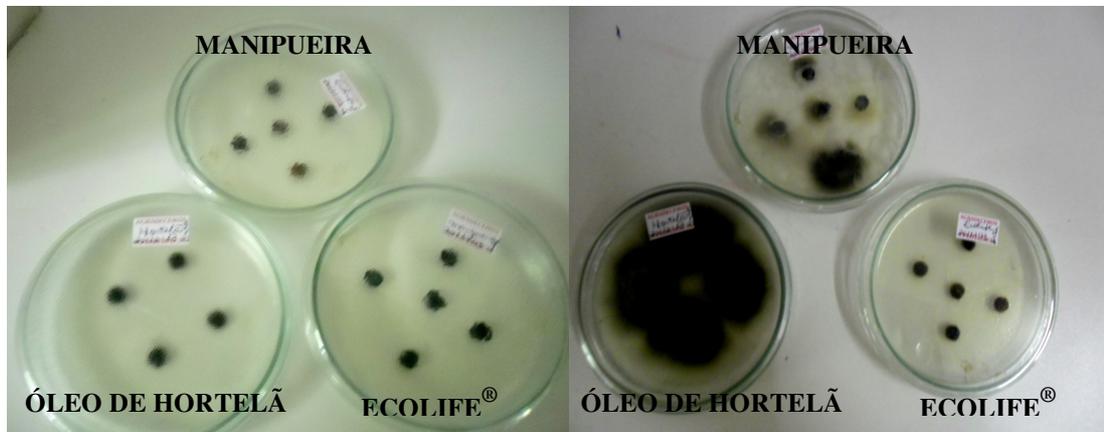
Conforme Kanaak e Fiuza (2010), os óleos essenciais têm ação bactericida, fungicida e inseticida, possuem determinados terpenos que são capazes de tornarem a membrana celular do fungo permeável, causando vazamento de seu conteúdo.

Vários autores têm mostrado que *Trichoderma* podem secretar diversos antibióticos antifúngicos como as pironas, isocianatos, tricotecenos, dentre outros (SCHIRMBOCK et al., 1994). Essas espécies apresentam rápido crescimento e colonização sendo consideradas competidoras agressivas. Essa eficiência de inibição parece está relacionada a altas taxas e acumulação de CO₂ realizadas pelo antagonista (MARCHETTI et al., 1992).

4.3.1 Avaliação do efeito fungicida

O teste de atividade fungicida mostrou a viabilidade da manipueira (40%) e do óleo de hortelã pimenta (100µL), os quais não haviam mostrado crescimento micelial nas placas contendo as concentrações testadas, indicando que os mesmos possuem apenas atividade fungitática paralisando o crescimento e a germinação de esporos. Já o Ecolife[®] (20%), mostrou inviabilidade de crescimento do micélio, indicando atividade fungitóxica (Figura 8).

Figura 8 – Avaliação do efeito fungitóxico “in vitro” do óleo de hortelã pimenta, manipueira e Ecolife®.



Fonte: Autora, 2014.

4.4 Avaliação in vivo de produtos naturais no controle da queima das folhas do inhame (*C. eragrostidis*)

Os resultados da Tabela 6 mostram que os tratamentos com extrato de alho, o fungo *Trichoderma* sp., o fungicida mancozeb, o extrato de melão de São caetano e o óleo de hortelã foram capazes de reduzir a severidade da queima das folhas de inhame, apresentando as menores porcentagens de severidade da doença, diferindo significativamente do tratamento com Manipueira, que não diferiu da Testemunha e Ecolife®, que se comportou como condutora a doença, com porcentagens de severidade superiores a testemunha.

Tabela 6 – Efeito de extratos vegetais, óleo essencial, *Trichoderma* sp., Ecolife® e fungicida no controle da Queima das folhas do inhame.

TRATAMENTOS	SEVERIDADE DA DOENÇA (%)
Extrato de alho (20%)	0,022 a
<i>Trichoderma</i> sp. (10^8 con.mL ⁻¹)	0,097 ab
Fungicida mancozeb (2,0g.L ⁻¹)	0,162 b
Extrato de melão de São caetano (20%)	0,320 c
Óleo de hortelã (100 µL)	0,408 c
Manipueira (40%)	1,367 d
Testemunha	1,437 d
Ecolife® (20%)	2,180 e
Teste F = 6,867**	
CV(%) 21,61	Erro padrão= 0,0485

**Significativo ao nível de 1% de probabilidade. Médias de 7 repetições por tratamento. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade.

O extrato de alho e o fungo *Trichoderma* sp. apresentaram as menores porcentagens da doença, sendo assim os melhores tratamentos a serem utilizados no controle da queima das folhas em inhame, embora este último não tenha diferido significativamente do tratamento com o fungicida. Nas plantas pulverizadas com o fungicida mancozeb, extrato de melão de São caetano e o óleo de hortelã-pimenta também apresentaram baixa severidade da doença.

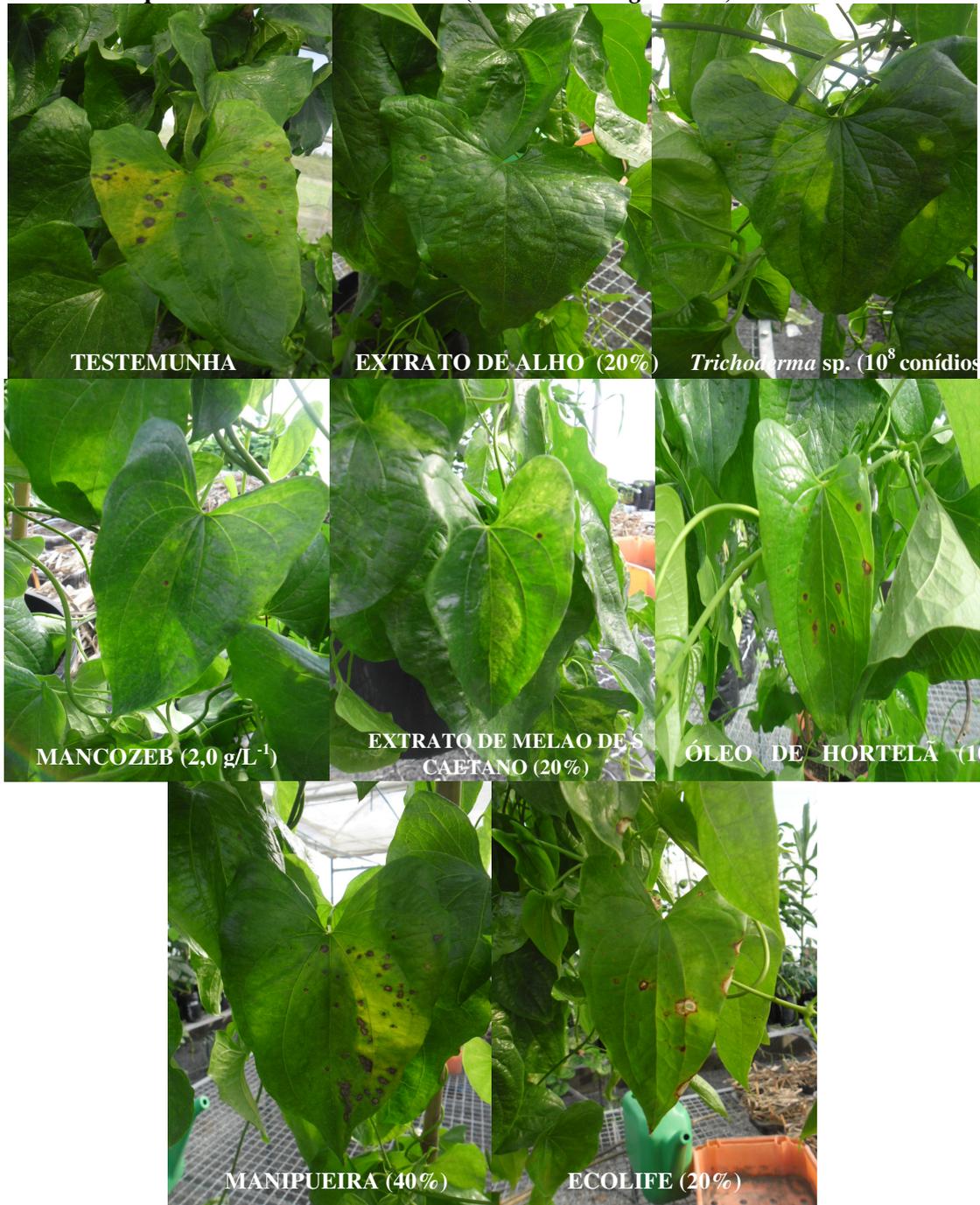
Comparando-se os resultados “in vivo” com os encontrados no experimento “in vitro”, observa-se comportamentos diferentes dos produtos naturais: o extrato de alho e *Trichoderma* sp. que proporcionaram porcentagens de inibições medianas na taxa de crescimento do patógeno, quando utilizados sobre o hospedeiro proporcionaram os melhores resultados de controle da doença. O Ecolife® e a Manipueira apresentaram resultados inversos aos encontrados no teste “in vitro”. O óleo de hortelã, que teve um efeito de inibição “in vitro” semelhante ao Ecolife® e Manipueira, proporcionou efeitos medianos “in vivo”, enquanto o melão de São caetano, que proporcionou efeito abaixo da média “in vitro”, melhorou seu

desempenho no hospedeiro e o fungicida também teve desempenho superior no tratamento “in vivo”.

Vários fatores, possivelmente podem ter influenciado esse comportamento dos produtos naturais: o ambiente controlado em que o experimento “in vivo” permaneceu; interações com o hospedeiro (inhame); temperatura; a volatilidade do produto utilizado, etc.

Na Figura 9 pode ser observado o efeito dos tratamentos com produtos naturais e fungicida sobre a queima das folhas do inhame.

Figura 9 – Efeito de extratos vegetais, óleo essencial, *Trichoderma* sp., Ecolife® e fungicida sobre a severidade da queima das folhas do inhame (*Curvularia eragrostides*).



Fonte: Autora, 2014.

Vários trabalhos com extratos vegetais, óleos essenciais e fungos antagonistas vêm sendo utilizados, apresentando enorme potencial no controle de fitopatógenos, por possuir baixa toxicidade ao meio ambiente e seres vivos.

Macedo (2013) estudando o efeito de produtos vegetais e Ecolife[®] no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) destaca o alho, na concentração de 10%, como o melhor resultado, ao obter índice de doença de 16,5%, conseguindo controlar a doença em 81,14%.

Almeida et al. (2013) utilizando extratos vegetais na proteção de plantas de inhame contra *C. eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. observaram que houve redução da incidência dos dois patógenos para as diferentes concentrações dos extratos testados quando comparados com a testemunha, e as menores médias da área da curva de progresso da doença foram obtidas para tratamentos com manipueira e folhas de juá a 25%, discordando dos resultados encontrados nesse trabalho

Silva (2007) avaliou óleos essenciais, extratos vegetais aquosos e Ecolife[®] sobre a incidência do mal-do-Panamá e verificou que o óleo de citronela e os extratos de cravo, alho e Ecolife[®] apresentaram os melhores resultados, com índice da intensidade da doença de 25,29; 17,25 e 8,33%, respectivamente.

Ao avaliar o efeito dos produtos naturais e fungicida no controle da podridão de *Colletotrichum gloeosporioides* em frutos de mamão, Nunes (2011) observou que o tratamento com extrato de alho foi capaz de controlar a antracnose em 100%. Enquanto que os tratamentos com melão de São Caetano, Ecolife e mancozeb reduziram a incidência da doença em 71,3% e 43% e a severidade em aproximadamente 72% respectivamente.

Em relação ao fungo *Trichoderma* sp., ainda não existem estudos no controle biológico de *C. eragrostidis*, em condições de campo. Na literatura existem vários exemplos de patógenos, tanto habitantes do solo como da parte aérea, que são controlados por *Trichoderma* (CAVERO, 2011).

O nível de controle obtido com práticas alternativas pode ser considerado insuficiente para a agricultura convencional, mas para agricultura orgânica essas opções permitem a diminuição da intensidade da doença podendo ser importantes no contexto das estratégias de manejo.

Apesar deste trabalho indicar que o extrato de alho e o fungo *Trichoderma* sp. tem potencial para o controle da queima das folhas e m inhame, mais estudos são necessários para elucidar os níveis de controle desses tratamentos.

5 CONCLUSÕES

- 1- O meio BDA sob regime de alternância luminosa proporciona uma maior esporulação de *Curvularia eragrostidis*.
- 2- O meio LC produz uma maior quantidade de massa micelial de *C. eragrostidis*.
- 3- O Ecolife[®] (20%), Manipueira (40%), Óleo de hortelã pimenta (100 μ L), *Trichoderma* sp. (10^8 conídios.mL⁻¹), Extrato de alho (20%), Melão de São caetano (20%) e o fungicida mancozeb (2,0 g.L⁻¹) são capazes de inibir o crescimento micelial de *C.eragrostidis*.
- 5- A manipueira e o óleo de hortelã-pimenta apresentam atividade fungitática.
- 6- Os extratos de alho (20%), melão de São caetano (20%), óleo de hortelã (100 μ L), o fungo *Trichoderma* sp. (10^8 conídios.mL⁻¹) e fungicida mancozeb (2,0 g.L⁻¹) são capazes de reduzir a severidade da queima das folhas de inhame.

REFERÊNCIAS

AGRIOS, G.N. Controle de doenças de plantas. In: AGRIOS, G.N. (ED.) **Patologia Plant.** San Diego: Academic Press. p.173-221, 2005.

ALEXANDRE, E. R. et al. **Influência de meios de cultura sobre o peso seco de *Chalara paradoxa*.** (Resumo). 2009.

ALMEIDA, D. O. C. de; SOUZA, J. T. de; MOREIRA, R. F. C. Uso de extratos vegetais na proteção de plantas de inhame contra *Curvularia eragrostidis* e *Phyllosticta* sp. **Agrotropica.** Ilhéus, Bahia; Centro de Pesquisas do Cacau, 2013.

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

ANDRADE, D. E. G. T., **Fungos fitopatogênicos.** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco. 1988.

ANDRADE, D. E. G. T. et al. **Manejo alternativo da Casca-preta e da Queima das folhas do inhame.** In: Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica, Recife, v.7. p. 209-223, 2010.

ASCOM/SEAGRI-AL. **Benefícios para a saúde.** Disponível em: <WWW.correiodosmunicipios-al.com.br/noticias/?vcod=6980. Acesso em: 07/02/2014.

AZEVEDO, J. N. de; DUARTE, R. L. R. **Cultivo do Cará da Costa.** Teresina/CNPAMN. 19p, 1997.

BALBI- PEÑA, M. I. et al. Controle de *Alternaria solanum* do tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e Curcumina- I. Avaliação in vitro. **Fitopatologia Brasileira.** v. 31, n. 3, p. 310-314, 2006.

BARBOSA, L. F. **Controle da podridão peduncular da manga (*Lasioidiploidia treobromae* (PAT.) GRIFFON & MAUBL), utilizando extratos vegetais, óleos essenciais e hidroterapia.** Dissertação (Mestrado em produção vegetal) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo. 57 p, 2011.

- 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.
- BARROS, S. T.; OLIVEIRA, N. T.; MAIA, L.C. Efeito do extrato de alho (*Allium sativum*) sobre o crescimento micelial de *Curvularia* spp e *Alternaria* spp. **Summa Phytopathologica**, v.21, p.168-170, 1995.
- BEZERRA, A. M. E. et al. Germinação e desenvolvimento de plântulas de Melão-de-São-Caetano em diferentes ambientes e substratos. **Revista Ciência Agronômica**. 2002.
- BRITO, N. M. de. **Estudo da fisiologia de variabilidade genética de *Curvularia eragrostidis* na cultura do inhame**. Dissertação (Mestrado em agronomia) – Universidade Federal da Paraíba, Areia. 50 p, 2006.
- BOGO, A. et al. Caracterização morfológica de isolados de *Cryptosporiopsis perennans* em diferentes meios de cultura. **Tropical Plant Pathology**. v. 33, n. 3, p. 24-25, 2008.
- CARNAÚBA, J. P. et al. Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Scytalidium lignicola*. **Summa Phytopathologica**. Botucatu. v. 33, n. 2, p. 199-200, 2007.
- CARVALHO, R. A. et al. **Extratos de plantas medicinais como estratégia para o controle de doenças fúngicas do inhame (*Dioscorea* sp.) no nordeste**. 2013.
- CASTELLANI, A. Maintenance and cultivation of common pathogenic fungi of man in sterile water. **Journal of Tropical medicine and Hygiene**. v. 70. p 181-184, 1967.
- CAVERO, P. A. S. **Controle biológico de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet agente causal da sigatoka- negra da bananeira (*Musa* spp.) com *Trichoderma* spp.** (Dissertação de mestrado em Agricultura no Trópico Úmido) - INPA, Manaus. 42 p, 2011.
- CEREDA, M. P. **Manejo, uso e tratamento de subprodutos da industrialização da mandioca**. Série culturas de tuberosas amiláceas latino americanas. São Paulo. Fundação Cargill. 340 p, 2001.
- COUTO, E. F. ; MENEZES, M. Caracterização fisiomorfológica de isolados de *Colletotrichum musae*. **Fitopatologia Brasileira** v. 29, p. 406-412, 2004.

CUTRIM, F. A. et al. Influência de meios de cultura e da interação carbono-nitrogênio no crescimento e esporulação de *Penicillium sclerotigenum*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.32, n.1, 2006.

DHINGRA, O.D.; SINCLAIR, J.B. **Basic plant pathology methods**. Lewis: Publishers Boca Raton, Flórida, 1995.

EDGINTON, L. V.; KNEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. *Phitopathology*. v. 62, n.7, p. 42-44, 1971.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. VII. *Curvularia*, *Brachysporum* etc. Commonwealth Mycological Institute, Mycological Papers, n 106, England. 57 p, 1966.

ELLIS, M. B. **Dematiaceous Hyphomycetes**. Commonwealth Mycological Institute, Kew. England. 60 p, 1971.

EMATER/IPA. **Sistemas de produção para cará da costa: Agreste Setentrional, Agreste Meridional e Mata Norte**. Recife: Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Estado de Pernambuco/ Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária 11:48. 1985.

ETHUR, L. Z. et al. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotium* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**. v. 30, p. 127-133, 2005.

FAO, 2012. Statical Dates. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> > Acesso em: 15/04/2014.

FURTADO, D. C. **Efeito de óleos essenciais e extratos vegetais no controle de *Fusarium semitectum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia lunata* e *C. eragrostides* em inflorescências de *Tapeinochillus anannaceae***. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Alagoas. Rio Largo. 61p, 2006.

GARIÉPY, T. D. et al. Species specific identification of the *Neofabrea* pathogen complex associated with pome fruits using PCR and multiplex DNA amplification. **Mycologia**. v.107, p. 528-536, 2003.

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

HARMAN, G. E. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. **Nature**, v. 2, p. 43-56, 2004.

IBGE. SIDRA - Sistema IBGE de recuperação automática. Rio de Janeiro: **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística**. Censo Agropecuário do Brasil, 2008. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>> Acesso em 05/01/13.

KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 463-471, 1997.

KIMATI, H. et al. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Agronômica Ceres. p. 415-419, 2005.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potencial dos óleos essenciais de plantas no controle de insetos e microrganismos. **Neotropical Biology and conservation**. p. 120-132, 2010.

LARANJEIRA, D. Situação atual do controle biológico de *Fusarium* spp. In: VII Reunião de Controle Biológico de Fitopatógenos. Bento Gonçalves. **Anais...** Bento Gonçalves:UFSM e EMBAPA Uva e Vinho, 2001.

LEÃO, E. U. et al. Crescimento micelial e produção de conídios de *Ascochyta cucumis* em diferentes meios de cultura e regimes de luz. **Biosci. J.** Uberlândia, v. 28, n.2, p. 325-331, 2012.

LEITE, R. P. et al. **Avaliação de peso seco de isolados de *Curvularia eragrostidis* em diferentes meios de cultura**. (Resumo). 2013.

LOPES, R. B. A indústria no controle biológico: produção e comercialização de microrganismos no Brasil In: Bettiol W, Morandi MAB (Eds.). **Biocontrole de doenças de plantas: uso e perspectivas**. Embrapa Meio Ambiente. p 15-28, 2009.

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

MACEDO, J. J. N. de. **Efeito de produtos naturais e Ecolife sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, os níveis de antracnose e qualidade dos frutos Sunrise Golden**. (Dissertação de mestrado em proteção vegetal) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo, 50 p, 2013.

- MACHADO, A. A. **Esporulação de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. E variabilidade do método de inoculação de esporos em estudos de seleção de germoplasma resistente.** Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura (Luiz de Queiroz/USP). Piracicaba, 1980.
- MAFRA, R. C. **Recomendações Técnicas para o cultivo do cará.** Brasília: Centro Nacional de Pesquisa de Hortaliças – EMBRAPA. 1986.
- MARCHETTI, R. et al. Competition at atmosphere level as biocontrol mechanism in *Trichoderma* spp. **Petria**. v. 2, p. 137-47, 1992.
- MARIANO, R. L. R., SILVEIRA, E.B., GOMES, A.M.A. **Controle biológico de doenças radiculares.** In: Michereff, S.J., Andrade, D.E.G.T., Menezes, M. (Eds.) Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. UFRPE. p.303-322, 2005.
- MARTINS-CORDER, M. P.; MELO I. S. Antagonismo in vitro de *Trichoderma* spp. a *Verticillium dahliae* KLEB. **Scientia Agricola**. v. 55, n. 1, SSN 0103-9016, 1998.
- MARTINS; E. R. et al. **Plantas Medicinais.** Viçosa: Editora UFV. 220p, 1998.
- MATSUSHIMA, T. **Matssushima Mycological Memoirs.** Publicado pelo autor Kobe. n. 3, 1983.
- MELO, I. S. **Agentes microbianos de controle de fungos fitopatogênicos.** (Eds.) Controle biológico. Jaguariúna: EMBRAPA, 1998.
- MENEZES, M. **Fungos fitopatogênicos.** Recife: Universidade Federal Rural de Pernambuco. p.381 e 349, 1988.
- MENEZES, M.; SILVA-HANLIN, D. M. W. **Guia prático para fungos fitopatogênicos.** Recife: Imprensa Universitária da UFRPE. 106 p, 1999.
- MENEZES, J. P. ***Trichoderma* spp–Microrganismo utilizado no controle de Fitopatógenos.** Disponível em:
<www.agronline.com.br/artigos/artigo.php?id=91&pg+1&n=3. Acesso em: 10/02/2014.

MICHEREFF, S. J.; MAFIA, L. A.; PEDROSA, R. A. Progresso e arranjo espacial da queima das folhas do inhame, causadas por *Curvularia eragrostidis*, na zona da mata de Pernambuco. **Agrotropica**, Ilhéus, v.12, n.2, p. 87-94, 2000.

MICHEREFF, S. J.; MAFFIA, L. A.; NORONHA, M. A. Escala diagramática para avaliação da severidade da queima das folhas do inhame. **Fitopatologia Brasileira**. v 25. p 612-619, 2000.

MICROBIOLOGIA MÉDICA. **Cultura de microorganismos – necessidades nutritivas; Meios de cultura: composição, preparação, armazenamento, utilização; Técnicas de sementeira**. Apostilado. 2007.

MOORE-LANDECKER, E. **Fundamentals of the fungi**. London. Prentice- Hall. 1972.

MORAES, E. M. da S. **Análise de espécies de *Curvularia* associadas à cultura do inhame no estado de Alagoas**. Dissertação (Mestrado em agronomia). Universidade Federal de Alagoas. 75p, 2009.

MOURA, R. M. Problemas Fitossanitários do inhame no Nordeste e proposta para um sistema integrado de controle. Anais do II Simpósio Nacional sobre as Culturas do Inhame e do Taro. João Pessoa: EMEPA- PB. 2002.

MOURA, R. M. Doenças do Inhame-da-Costa. In: Kimati, H. et al. Manual de Fitopatologia. V.2. Doenças das Plantas Cultivadas. 4ª Ed. São Paulo-SP. Ceres. 2005.

MOURA, R. M. Principais Doenças do Inhame da Costa no Nordeste do Brasil. In: **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife. v. 3, p. 180-199, 2006.

NETO, P. A. S. P. et al. **INHAME: O Nordeste fértil**. Maceió: EDUFAL. p. 28-29, 2000.

NUNES, M. G. **Uso de extratos vegetais no controle da antracnose (*Colletotrichum gloesporioesdes* (Penz.) Penz. & Sacc) do mamoeiro**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo. 35 p, 2011.

PEDRALLI, G. Uso de nomes populares para as espécies de Araceae e Dioscoreaceae. In: **SIMPÓSIO NACIONAL SOBRE AS CULTURAS DO INHAME E DO TARO**, 1., 2002. João Pessoa, PB. **Anais...** João Pessoa: Emepa. v.1, p. 308-311, 2002.

PENTEADO, S. R. **Defensivos alternativos naturais para uma agricultura saudável.** Campinas-SP. 79 p, 1999.

PEREIRA, M. M. et al. Constituintes químicos e estudo biológico de *Aspidosperma nitidum* (Apocynaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais.** v.8, n.3, p. 1-8, 2006.

PONTE, J. J. **Cartilha da manipueira: uso do composto como insumo agrícola.** Secretaria da Ciência e Tecnologia do Ceará. 53 p, 1999.

PONTES, J.J. DA. Um Basta aos Agrotóxicos. In: Congresso Brasileiro de Defensivos Alternativos, 1., 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Academia Cearense de Ciências, 2000.

QUINABRA-Química Natural Brasileira Ltda. 2005. Disponível em <www.quinabra.com.br> Acesso em: 01/03/2014.

REMUSKA, A. C.; PRIA, M. D. Efeito de *Bacillus Thuringiensis* e *Trichoderma* sp. no crescimento de fungos fitopatogênicos. **Publicatio UEPG-Ciências Exatas e da terra, Agrárias e Engenharias.** v.13, n. 3, 2007.

RÖDER, C. et al. Controle em pós-colheita da podridão de *Rhizopus* do morangueiro através de produtos naturais. **Fitopatologia Brasileira,** Brasília, v.28, p.360-360, 2003.

RONDÓN, T. R. et al. Efectividad in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai para el biocontrol de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Pyricularia grisea* sacc. aislados en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* l.). **Fitosanidad.** v.11, p. 29-34, 2007.

ROZWALKA, L. C. et al. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. **Ciência Rural,** Santa Maria, v.38, n.2, p.301-307, 2008.

SANDES, W. A. S. **APL Inhame no Vale do Paraíba.** Disponível em: <www.seplande.al.gov.br/desenvolvimento-economico/desenvolvimento-regional-e-setorial/13-arranjos-1/inhame-no-vale-do-paraiba>. Acesso: 04/02/2014.

SANTOS, C. C. et al. Influência de *Trichoderma* spp. sobre o crescimento micelial de *Thielaviopsis paradoxa*. **Scientia Plena.**v 8, n. 4, 2012.

SANTOS, E. S. dos. **Inhame (*Dioscorea spp.*): aspectos básicos da cultura.** João Pessoa: EMEPA-PB, SEBRAE. p. 158, 1996.

SANTOS, E. S. dos. et al. **Contribuição tecnológica para a cultura do inhame no Estado da Paraíba.** João pessoa, PB: EMEPA-PB/MMA-PRONAF, (EMEPA-PB. Documentos, 23). 84 p, 1998.

SANTOS, E. S. dos. **Manejo sustentável da cultura do inhame (*Dioscorea sp.*) no Nordeste do Brasil.** João pessoa. EMEAPA-PB, 2002.

SANTOS, E. S. dos. et al. **INHAME (*Dioscorea sp.*) Tecnologias de Produção e Preservação Ambiental.** Tecnologia & Ciências Agropecuárias, João Pessoa. v.1, n.1, p.34 e 39, 2007.

SARAIVA, F.Z. et al. Uso de manipueira no desenvolvimento vegetativo do milho em ambientes protegido. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental.** v.11, p. 30-36, 2007.

SCHIRMBOCK, M. et al. Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. **Applied Environmental Microbiology.** v. 60, n. 4, p. 63-70, 1994.

SEBRAE. Disponível em: < http://www.sebrae.com.br/uf/alagoas/areas-de-atuacao/agronegocios/cultura-do-inhame/cultivo-de-inhame/BIA_120000755>. Acesso em: 12/12/2013.

SILVA, F. de A. S. e. Assistat version 7.7 beta. Campina grande: UFCG, 2014.

SILVA, F.F. **Impacto da aplicação de efluente de fecularia de mandioca em solo e na cultura do sorgo (*Sorghum bicolor*).** Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá. p. 69, 2013.

SILVA, J. C da. **Uso de óleos essenciais, extratos vegetais e indutores de resistência no controle alternativo do mal-do-Panamá da bananeira.** (Dissertação de mestrado em produção vegetal) – Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo. 67 p, 2007.

SILVA, K. S. et al. Atividade antagônica in vitro de isolados de *Trichoderma spp.* ao fungo *Phytophthora citrophthora*. **Semina: Ciências Agrárias.** n. 4, v. 29, 2008.

SILVEIRA, G. S. R. et al. **Manual de hortaliças não-convencionais / Secretaria de Desenvolvimento Agropecuário e Cooperativismo**. Brasília: Mapa/ACS. p.13-15, 2010.

SIVANESAN, A. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. **Mycological Papers**. v. 158, p.1-261, 1987.

SOARES, L. P. R. **Controle da podridão do fruto de mamoeiro (*Phytophthora palmivora* BUTLER), utilizando extratos vegetais, óleos essenciais e hidroterapia**. (Trabalho de Conclusão de Curso). Rio Largo: UFAL-CECA. 49 p, 2009.

SOUZA, J. L.; CARMO, C. A. S. de. **Cultivo orgânico de raízes tropicais tem grande importância para a agricultura familiar**. CPT – Centro de Produções Técnicas. Disponível em: < <http://www.cpt.com.br> >. Acesso em: 20/12/2013.

SUN et al. Species separation in *Curvularia* “geniculata” group inferred from *Brnl* gene sequences. **Mycoscience**. v.44, p. 239-244, 2003.

TSUDA, M.; UEYAMA, A. *Pseudocochliobolus australiensis*, The ascigerous state of *Bipolaris australiensis*. **Mycologia**. v. 73, p. 88-96, 1982.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8 ed. Editora Artmed. Porto Alegre. 2009.

TUITE, J. **Plant Pathological Methods, Fungi and Bacteria**. Burgess Publishing Company, Minneapolis. 1969.

VÉRAS, S. M.; GASPAROTO, L.; MENEZES, M. Variabilidade fisio-morfológica de *Colletotrichum guaranicola* em diferentes substratos. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**, Curitiba. v.40, n.2, p.297-305, 1997.

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

VILAS-BOAS, C. H. et al. Efeito do Ecolife® no crescimento micelial de *Colletotrichum* sp. **Fitopatologia Brasileira**. (Resumo). Brasília. v.30, supl., p.158-158, 2004.

WOSIACK, G.; CEREDA, M.P. Valorização de resíduos do processamento de mandioca. **Publicatio UEPG: Exact and soil sciences.** v.8, p. 27-43. 2002.

ZUCCHI, F. **O *Trichoderma* sp. em áreas agrícolas visando o controle de doenças fúngicas de raízes de plantas cultivadas.** São Paulo, Biotecnologia - USP. p. 7-5, 2013.