

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

**DETECÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM SEMENTES
DE CAUPI (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) E AVALIAÇÃO
DE EXTRATOS VEGETAIS SOBRE A INTERAÇÃO
FUNGO-SEMENTE.**

Humaitá - AM
Setembro de 2013

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

**DETECÇÃO DE FUNGOS ENDOFÍTICOS EM SEMENTES
DE CAUPI (*Vigna Unguiculata* (L.) Walp.) E AVALIAÇÃO
DE EXTRATOS VEGETAIS SOBRE A INTERAÇÃO
FUNGO-SEMENTE.**

Aluno: Ivalmir Mota Abadias
Orientadora: Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento

“Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao colegiado de Agronomia do Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente, como parte dos requisitos básicos para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo”.

Humaitá-AM
Setembro de 201

A116d Abadias, Ivalmir Mota.
Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupi
(*Vigna Unguiculata* (L.) Walp.) e avaliação de extratos vegetais
sobre a interação fungo semente / Ivalmir Mota Abadias.-- 2013.
46 f. ; il.

Monografia (Engenheiro Agrônomo) – Universidade Federal
do Amazonas, curso de Agronomia, Humaitá, 2013.

Orientador: Prof. Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento.

1. Fungos fitopatogênicos. 2. Extratos vegetais. 3.
Feijão caupi. I. Ana Verônica Silva do Nascimento. II. Título.

CDU: 63.582.28



UFAM

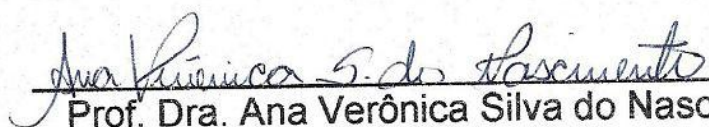
Universidade Federal do Amazonas – UFAM
Campus Vale do Rio Madeira – CVRM
Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente – IEAA
Coordenação do Curso de Agronomia

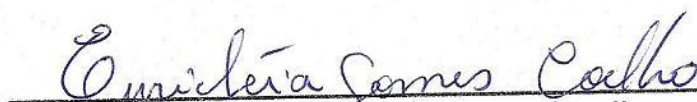
Detecção de fungos endofíticos em sementes de Caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e avaliação de extratos vegetais sobre a interação fungo-semente.

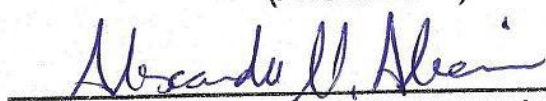
por

Ivalmir Mota Abadias

Trabalho de conclusão de curso defendido e aprovado em 13 de setembro de 2013 pela banca examinadora constituída pelos professores abaixo:


Prof. Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento
(Orientadora/Avaliadora)


Prof. Msc. Euricleia Gomes Coelho
(Avaliadora)


Prof. Dr. Alexandre Mascarenhas Alecrim
(Avaliador)

“Isto é uma ordem: sê firme e corajoso.
Não te atemorizes, não tenhas medo,
porque o Senhor está contigo em
qualquer parte para onde fores”. (Josué
1,19)

EPÍGRAFE

A toda a minha família em especial meus pais que sempre me apoiaram e incentivaram e fizeram acreditar com carinho e atenção que podia ir cada vez mais além. E a todos os amigos que estiveram comigo em todos os momentos da graduação.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por conceder a oportunidade da realização deste trabalho e por ser o refúgio nas horas em que mais necessitava e por todas as bênçãos recebidas nesta jornada.

A Universidade Federal do Amazonas pela oportunidade dada para a execução deste curso.

A Prof^a. Dra. Ana Verônica Silva do Nascimento, pelas orientações, estímulos e ensinamentos transmitidos no decorrer de todo o curso e pelas oportunidades de estagio dadas no Laboratório de Fitossanidade.

Aos Professores André Bordinhon, Luciano Rohleder, Carlos Pereira, Edgard Tribuzy, Valdemir (*in memória*), Anderson Cristian, Luís Silva, Alessandro Machado, Janaina, Vairton pela presteza, orientação, conhecimentos repassados em sala de aula no decorrer do curso.

Ao supervisor de estágio Luis Martins, por todos os conhecimentos repassados, apoio e orientações dadas. E aos colegas de estagio Francisco Junior e Amilton.

Aos colegas de curso, pela amizade, companheirismo e pelo aprendizado que obtivemos juntos.

Aos companheiros do laboratório de Fitossanidade, obrigado pelo apoio, amizade e contribuição no desenvolvimento do trabalho de maneira especial a

Naime Andreott, Giovana Tenório, Maria Francisca que não mediram esforços para auxiliar sempre que preciso.

Aos amigos do curso, Claudineia Pessoa, que muito contribuiu no decorrer do curso, e Nilson, Rosenir, Rody, José Cunegundes, Amanda, Pedro Aquino, Elenilson, Maicon, Rayele, Clécia, Nonato, Julio, Selma, Isma.

Ao meu pai Alexandre, minha mãe Iva, minha irmã Ana Marta e meu irmão Francilanes, obrigado pelo apoio e incentivos dado em todos os momentos até aqui.

A todos os meus amigos da Renovação Carismática Católica em especial minha prima Rose, aos amigos Adriana Moraes, Kassia, Iramarlis que sempre me motivaram em todos os momentos.

Aos amigos Francisca Neta, Rozineide, Rose Belite pelas palavras de incentivo e pelas orações.

Aos meus primos Tiago, Selma, Marlene e seu esposo Nilson, pela acolhida e ajuda durante o período de realização de estagio em Porto Velho.

Sumário

LISTA DE FIGURAS	09
LISTA DE TABELAS	11
RESUMO	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUÇÃO	13
2. REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1. Potencial econômico e exploração da cultura do feijão caupi	15
2.2. Incidência de doenças em sementes de feijão caupi	16
2.3. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos em sementes de feijão caupi	17
3. OBJETIVOS	20
3.1. Objetivo Geral:	20
3.2. Objetivos Específicos:	20
4. MATERIAL E METODOS	21
4.1. Coleta das sementes	21
4.2. Preparo do material	22
4.3. Identificação dos fitopatógenos nas sementes	22
4.4. Caracterização morfológica e visualização das estruturas fúngicas	23
4.5. Avaliação dos extratos de Alho e Andiroba	24
4.5.1. Preparação dos extratos	24
4.5.2. Utilização dos extratos nas sementes de feijão caupi	25
4.5.3. Avaliação do crescimento micelial através da utilização dos extratos ..	26
5. RESULTADOS E DISCURSÃO	28
5.1. Identificação dos fungos fitopatogênicos nas sementes de feijão caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) pelo método de papel filtro.	28
5.2. Observação da incidência de fitopatógenos no potencial de germinação das sementes de feijão caupi tratadas com extratos vegetais de Alho (<i>Allium sativum</i> L.) e Andiroba (<i>Caraba guianensis</i>).	31
5.3. Avaliação do crescimento micelial através da utilização dos extratos	34
6. CONCLUSÃO	38
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Amostras de feijão caupi coletadas na feira livre da cidade de Humaitá/AM. A, amostra 1; B, amostra 2; C, amostra 3; D, amostra 4; E, amostra 5.	21
Figura 2. Realização do isolamento em papel filtro. A, Umedecimento do papel filtro com água destilada esterilizada (ADE); B, Sementes plaqueadas em placas de Petri.	23
Figura 3. Preparação do extrato de alho. A, Bulbos de alho (<i>Allium sativum</i> L.); B, Extrato submetido ao processo de extração por infusão; C. Extrato de andiroba (<i>Caraba guianensis</i>) em processo de evaporação do álcool.....	24
Figura 4. Tratamento das amostras de feijão caupi. A, Tratamento com extrato de alho; B, Semente adicionada a caixa plástica contendo papel filtro; C; Semente já tratada com o extrato vegetal; D, Testemunha tratada apenas com água destilada esterelizada (ADE).....	26
Figura 5. Colônias fúngicas após os 7 dias de incubação em substrato papel filtro em placas de Petri.....	28
Figura 6. Colônias fúngicas após a repicagem em meio de cultivo BDA.	29
Figura 7. A; B; C, Influência dos fitopatógenos no potencial de germinação das sementes.....	31
Figura 8. Porcentagem de germinação das sementes de feijão caupi tratadas com extratos de alho e andiroba	32
Figura 9. Incidência de fungos nas sementes de feijão caupi após o tratamento com extratos de alho e andiroba	33
Figura 10. Avaliação do crescimento micelial <i>in vitro</i> de <i>Penicillium</i> sp e <i>Fusarium</i> sp com extrato de alho e andiroba.	35

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. População fúngica endofítica associada à semente de feijão caupi (<i>Vigna unguiculata</i> (L.) Walp.) identificados nas amostras coletadas na feira livre da cidade de Humaitá/AM	30
TABELA 2. Crescimento micelial de <i>Penicilium</i> sp e <i>Fusarium</i> sp submetidos a diferentes concentrações de extrato de alho e andiroba.....	35

RESUMO

O feijão-Caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é bastante cultivado na região nordeste e norte, sendo considerado como uma das principais fontes de calorias e proteínas para a população de baixa renda. Adapta-se bem a diferentes condições ambientais, apresentando desenvolvimento satisfatório em condições de baixa fertilidade do solo e conseguindo produzir, em anos secos. O objetivo deste trabalho foi Identificar a incidência de fungos fitopatogênicos em sementes de feijão Caupi e avaliar através do uso de extratos vegetais de alho (*Allium sativum* L.) e andiroba (*Caraba guianensis*) sua influência na inibição dos fungos *in vitro* e em sementes. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com dois tratamentos e três repetições mais uma testemunha, cada caixa plástica contendo 20 sementes por amostra. A avaliação dos extratos vegetais sob o crescimento micelial *Fusarium* sp. e *Penicillium* sp. foi realizada em placas de Petri contendo meio (BDA), acrescido das concentrações de 5, 10, 15 e 100% dos extratos de alho e de andiroba. O Delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com dois tratamentos, quatro concentrações e três repetições mais a testemunha comparada pelo teste Tukey a 5%. Os resultados demonstraram que as espécies fúngicas com maior ocorrência nas amostras foram os gêneros *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*. As amostras tratadas com os extratos vegetais apresentaram maior porcentagem de germinação em relação à testemunha. Sobre o crescimento micelial dos fungos *Fusarium* sp e *Penicillium* sp *in vitro* indicou eficiência na atividade antifúngica dos extratos vegetais sobre os fitopatógenos, sendo que nas concentrações de 15% já ocorreram um controle significativo. O extrato de alho foi mais eficiente para o fungo *Fusarium* sp controlando em 100% o crescimento micelial. Os extratos vegetais mostraram-se eficiente sobre o crescimento micelial de *Penicillium* sp e *Fusarium* sp *in vitro*.

Palavra chave: incidência, fitopatógenos, extratos.

ABSTRACT

The Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) is quite grown in the Northeast and North, being regarded as one of the main sources of calories and protein for the low-income population. Adapts well to different environmental conditions, showing satisfactory development in conditions of low soil fertility and yield in dry years. The aim of this study was to identify the incidence of phytopathogenic fungi in cowpea seeds and evaluate through the use of plant extracts of garlic (*Allium sativum* L.) and andiroba (*Carabao's game guianensis*) and its influence on fungi *in vitro* and inhibition in seeds. The delineation used was a completely randomized design with two treatments and three repetitions one more witness, each plastic box containing 20 seeds for a total of 90 seeds per sample. The evaluation of plant extracts on the Mycelial growth *Fusarium* SP. and *Penicillium* SP. was held in Petri dishes containing medium (BDA), increased concentrations of 5, 10, 15 and 100% of extracts of garlic and andiroba. The Delineation used was a completely randomized design with two treatments, four concentrations and three repetitions over the witness compared by Tukey test to 5%. The results demonstrated that the fungal species with greater occurrence in the samples were the genera *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium*. The samples treated with the plant extracts showed higher germination percentage in relation to the control. On the Mycelial growth of the fungus *Fusarium* sp and sp *Penicillium* *in vitro* antifungal activity of efficiency indicated plant extracts on the phytopathogens, being that at concentrations of 15% have already occurred a significant control. Garlic extract was more efficient for the fungus *Fusarium* sp controlling in 100% Mycelial growth. The plant extracts were efficient on the Mycelial growth of *Fusarium* sp and sp *Penicillium* *in vitro*.

Key word: incidence, phytopathogens, extract.

1. INTRODUÇÃO

O feijão-Caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) é uma cultura de importância relevante é cultivado pelos pequenos agricultores no Nordeste brasileiro, constituindo importante fonte de proteínas para a população, principalmente na região semi-árida (ASSUNÇÃO, et al (2003).

O feijão-caupi, por ser uma planta que apresenta tolerância à seca, pode ser cultivado em diferentes condições de clima e solo (NEVES, et al 2001).

Sabe-se que a baixa produtividade está associada ao plantio de cultivares tradicionais ou ao emprego de sementes de baixa qualidade agrônômica, portanto, com pouca capacidade produtiva (OLIVEIRA, et al 2003).

Um dos principais problemas para a cultura está relacionado à falta de adoção de tecnologia, onde o agricultor recorrendo ao uso de grãos como sementes, sem tratamento adequado contribuindo assim para o surgimento de doenças (RODRIGUES & MENEZES, 2002).

Um dos fatores responsáveis pela baixa produtividade de sementes do feijão caupi é o uso de sementes próprias, geralmente de baixa qualidade fisiológica e sanitária (SALLIS, 2001).

Gomes et al. (2008), afirmam que os principais fitopatógenos, em termos de número de doenças e perdas econômicas, são os fungos e que estes associados as sementes tem maior chance de ocasionar doenças nas plantas e disseminar doenças por outras áreas.

Atualmente há a tendência de serem utilizados produtos alternativos à base de recursos provenientes de plantas que podem ser cultivadas fornecendo a matéria prima (extratos ou óleos essenciais) para ser utilizada na agricultura e substituir os agroquímicos (SILVA, et al 2011).

Segundo Silva et al (2011) as plantas podem apresentar em sua composição química, substâncias ativas que podem atuar nas interações planta-patógeno como fungitóxicas, outras com atividade antimicrobiana ou, ainda, ativando os mecanismos de defesa da planta hospedeira, objetivando o

controle de patógenos e, paralelamente, a redução do uso indiscriminado de defensivos.

Com base no exposto acima a adoção de novas medidas de controle e o estudo de extratos vegetais poderá contribuir para uma agricultura muito mais orgânica sem a necessidade de uso indiscriminado de produtos químicos danosos à saúde dos seres humanos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Potencial econômico e exploração da cultura do feijão caupi

O feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), é uma das alternativas de renda e alimento para a população de baixa renda da região Nordeste do Brasil, que o consome sob a forma de grãos maduros ou grãos verdes (OLIVEIRA et al 2003).

Segundo Embrapa (2013), a espécie do feijão-caupi, denominada de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. originou-se da África e foi introduzida no Brasil pelos colonizadores portugueses no século XVI. A entrada da espécie no Brasil se deu pelo estado da Bahia e, de lá, se espalhou por todo o país. Embora o cultivo desta cultura seja mais expressivo nas Regiões Norte e Nordeste do Brasil, atualmente tem se expandido para outras regiões.

De acordo com Nascimento et al (2009), no Brasil, historicamente, a produção de feijão-caupi concentra-se nas regiões Nordeste (1,2 milhão de hectares) e Norte (55,8 mil hectares) do país, no entanto, a cultura está conquistando espaço na região Centro-Oeste, contribuindo com 35,6 % da área plantada e 15 % da produção de feijão total no país.

Segundo Ito et al (2013) apresenta como características técnicas: ciclo curto, alta resistência hídrica, baixa exigência nutricional e elevada adaptabilidade a solos arenosos, além da extrema rusticidade, posicionando o Brasil como um dos maiores produtores do mundo, com áreas cultivadas essencialmente no Nordeste e em algumas regiões da Amazônia, despontando com excelentes perspectivas no Centro-Oeste brasileiro.

Conforme Ito et al (2013), anualmente, em média, foram produzidas 482 mil toneladas em 1,3 milhão de hectares. A produtividade média do feijão-caupi, no Brasil, é baixa (366 kg ha⁻¹), em função do baixo nível tecnológico empregado no cultivo. No entanto, estados como Amazonas, Goiás, Mato Grosso do Sul e Mato Grosso apresentam produtividades superiores a 1.000 kg ha⁻¹ (NASCIMENTO et al, 2009).

O feijão-caupi ocupa 60% das áreas cultivadas com feijão no Nordeste brasileiro. A maioria dos produtores de feijão-caupi são pequenos agricultores, em sistema de parceria e em nível de subsistência (JÚNIOR et al, 2007).

De acordo com Neves et al (2001) o feijão-caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp), também conhecido como feijão-de corda, feijão-de-praia, feijão-da-estrada, feijão-de-rama, feijão-fradinho ou feijão macassar, macaça ou macáçar, é uma cultura de grande importância como componente da dieta alimentar, fonte de proteínas, das famílias, principalmente, das regiões Norte e Nordeste do Brasil.

Segundo Gomes et al. (2008), o uso de tecnologia na cultura do feijão caupi é muito baixo, o que reflete em baixos índices de rendimento e ao longo dos anos, vem ocasionando perda da qualidade fisiológica e genética e diminuindo produtividade para a cultura devido o uso de sementes de baixa qualidade.

2.2. Incidência de doenças em sementes de feijão caupi

De acordo com Rodrigues e Menezes (2002) o feijão caupi é cultivado principalmente por pequenos produtores rurais, esta cultura apresenta vários entraves, destacando-se a falta de adoção de tecnologia adequadas, onde na grande maioria das vezes o agricultor recorre ao uso de grãos como sementes, sem realizar o tratamento adequado, e isso faz com que ocorra o surgimento de doenças em áreas ainda não contaminadas por fitopatógenos.

Rodrigues e Menezes (2002) afirmam ainda que a má qualidade sanitária das sementes pode contribuir para a sua baixa germinação e redução do número de plantas no estande, bem como ocasionar podridões radiculares, murchas e afetar o rendimento desta cultura.

Segundo Assunção et al (2003), os danos na produção de caupi causados pela murcha-de-fusário podem diminuir principalmente o número de vagens e de sementes por planta e ocasionar diminuição no peso médio das sementes e perdas elevadas desta.

Sallis et al (2001), verificaram algumas espécies do gênero *Fusarium* também em feijão caupi, segundo estes autores estas espécies podem sobreviver no solo como saprófitas, sendo *Fusarium oxysporum*, a principal destas, causando a doença chamada “murcha” ou “amarelecimento de *Fusarium*”.

Benicio (2003), identificou espécies de *Aspergillus sp*, ao analisar algumas variáveis relativas às características culturais das mesmas em amostras de sementes armazenadas de feijão cv. Carioquinha. Fungos do gênero *Aspergillus sp*, *Fusarium sp*, *Macrophomina phaseolina* e *Phoma sp*, foram identificados nas sementes de feijão caupi por Silva, et al (2011), segundo o mesmo autor *Aspergillus spp* não são patogênicos à cultura do feijão caupi, sendo considerados fungos de armazenamento.

Os resultados obtidos por Rodrigues e Menezes (2002), ao avaliar população fúngica endofítica de cultivares de caupi indicaram a presença de 71 espécies de fungos compreendidas em 23 gêneros sendo os que ocorreram com maior frequência foram *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium*, os quais corresponderam a 81,44% do total de colônias obtidas, onde os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium* prevaleceram em 68,08% das colônias.

Conforme Pereira et al (2002), as sementes podem ser colonizadas em todas as fases de produção, inclusive após a colheita, por fungos fitopatogênicos, cujos principais danos são a redução da germinação e do vigor, esse fungos de armazenamento são responsáveis pela invasão e deterioração de sementes em condições de baixa umidade colonizando as sementes em condições de umidade relativa de 85 a 95% e podem reduzir a qualidade fisiológica delas.

2.3. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos em sementes de feijão caupi

De acordo com Camatti-Sartori et al (2011), esses produtos vegetais têm sido empregados de forma empírica por muitos agricultores familiares, que utilizam este sistema de cultivo aproveitando esses recursos naturais à sua disposição e de forma eficiente na inibição do desenvolvimento de vários fungos fitopatogênicos.

Segundo Souza et al (2010) a possibilidade de obter um produto natural, a partir de uma planta de ocorrência na região, próxima aos locais de plantio, poderia ser uma tentativa de obter uma ferramenta auxiliar no controle de doenças de plantas, minimizando a dependência de insumos externos e a contaminação de agricultores, consumidores e meio ambiente.

Experimentos com extratos vegetais para o controle de fungos em sementes foram realizados por Silva et al (2009) onde os mesmos avaliaram a inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum f. sp. tracheiphilum* em meio de cultura BDA (batata-dextrose-ágar). No período de sete dias, sob condições de luz natural e temperatura de $25 \pm 2^{\circ}$ C.

Venturoso et. al (2011) avaliou *in vitro* o efeito de diferentes concentrações dos extratos aquosos de alho, canela e cravo-da-índia sobre o crescimento de *Cercospora kikuchii*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum* sp. e *Phomopsis* sp.

Silva et al. (2012) avaliou *in vitro* o efeito do extrato de alfavaca, alho, capim santo, cravo da índia, pimenta, hortelã e nin sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, *P. oryzae* e *F.oxysporum f. sp vasinfectum* verificando as propriedades inibitórias de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fungos patogênicos.

Conforme Venturoso et. al (2011) utilizando extratos vegetais aquosos de cravo-da-índia, alho e canela sob o crescimento micelial, foi constatada atividade antifúngica sobre todos os fitopatógenos estudados proporcionando inibição do crescimento fúngico a partir do terceiro dia de incubação até o final das avaliações.

De acordo com Venturoso et al. (2010), os eficientes resultados constatados com a utilização de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos tornam esta prática como promissora dentre os controles alternativos utilizados para a utilização na agricultura.

Conforme Venturoso et al (2011), uma espécie de planta largamente utilizada e estudada, com resultados promissores, é o alho (*Allium sativum*), por conter duas substâncias, aliinase e aliína, armazenadas separadamente e, quando suas membranas são rompidas, formam a alicina, responsável pela defesa da planta.

De acordo com Silva, et al (2011) foi observado a redução de 51,86% na incidência de *Aspergillus* sp, quando as sementes foram tratadas com extrato de folhas de nim na concentração $4,0 \text{ g dm}^{-3}$.

Segundo Pastro et al (2012), o tratamento com extratos naturais aumentou significativamente o vigor das sementes de soja, não apresentando

influência sobre a germinação. Os principais microrganismos isolados e identificados nas sementes foram: *Cercospora kikuchii*, *Fusarium semitectum*, *Aspergillus sp.*, *Colletotrichum dematium* e bactérias.

Resultados obtidos Silva (2010) com experimento *in vitro* comprovaram o potencial de utilização de Extrato de Salva do Marajó como alternativa de manejo ao controle biológico de *bipolaris sp.* mas afirma que esses resultados foram observados em testes iniciais de controle, realizados *in vitro*, sob condições controladas, devendo-se, portanto, realizar-se teste a campo, em plantios onde o patógeno atua naturalmente.

Maia et al (2009) observou que as concentrações crescentes do extrato aquoso de alho reduziram o crescimento micelial de *Penicillium sp.* *in vitro* na concentração de 40% com redução em média de 55% o crescimento nos diferentes períodos de avaliação.

Portanto, a utilização de extratos vegetais como propriedades antifúngicas poderá se constituir uma alternativa agrícola ecológica viável e promissora para substituir a proteção tradicional promovida pela aplicação de fungicidas.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral:

Identificar a incidência de fungos fitopatogênicos em sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) e avaliar através do uso de extratos vegetais de alho (*Allium sativum* L.) e andiroba (*Caraba guianensis*) sua influência na inibição dos fungos em sementes.

3.2. Objetivos Específicos:

- Identificar fungos fitopatogênicos nas sementes de feijão Caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) pelo método de papel filtro (“Blotter Test”);
- Avaliar a incidência de fitopatógenos nas sementes de feijão Caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) tratadas com os extratos vegetais de Alho (*Allium sativum* L.) e Andiroba (*Caraba guianensis*) sobre o desenvolvimento de fitopatógenos através do método de papel de filtro (“Blotter Test”);
- Testar in vitro a influência dos extratos vegetais de Alho (*Allium sativum* L.) e Andiroba (*Caraba guianensis*) sobre o crescimento micelial de *Penicilium sp.* e *Fusarium sp.*

4. MATERIAL E METODOS

Os experimentos foram realizado no Laboratório de Fitossanidade do Instituto de Educação, Agricultura e Ambiente (IEAA) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), localizado no município de Humaitá/AM.

4.1. Coleta das sementes

A coleta das sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) foram realizadas na feira livre da cidade de Humaitá/AM junto aos comerciantes.

Foram adquirido um quilo por amostra de acordo com as figura 1 A a 1 E, e identificando área onde a mesma foi produzida, no total foram coletadas cinco amostras de sementes.

As amostras foram cultivadas nas seguintes localidades: amostra 1 na comunidade Santa Rosa; amostra 2 Lago do Antônio; amostra 3 São Miguel; amostra 4 Paraisinho e amostra 5 cidade de Porto Velho/RO. Após a coleta as sementes foram separadas por amostra para a realização das análises.



Figura 1. Amostras de feijão caupi coletadas na feira livre da cidade de Humaitá/AM. **A**, amostra 1; **B**, amostra 2; **C**, amostra 3; **D**, amostra 4; **E**, amostra 5.

4.2. Preparo do material

Todos os materiais como vidrarias, pinças, palitos, água destilada e meio BDA foram previamente esterilizados em autoclave a temperatura de 120°C por 20 minutos. Após a autoclavagem os materiais foram dispostos em câmara de fluxo laminar por 20 minutos em luz ultravioleta (UV) juntamente com o papel filtro utilizado no experimento.

4.3. Identificação dos fitopatógenos nas sementes

Para a identificação dos fungos nas sementes foi empregado o Método do papel de filtro tradicional de acordo com Lucca Filho (2006). O método do papel de filtro pode ser utilizado para todos os tipos de sementes. Com base na metodologia as sementes foram plaqueadas em placas de Petri de 9 cm de circunferência contendo o papel filtro umedecidos com água destilada esterilizada (ADE) conforme a Figura 2A.

Todo o procedimento foi realizado em câmara de fluxo laminar após a realização da assepsia padrão com álcool a 70% e em seguida utilização de luz ultravioleta (UV) por 20 minutos. Em cada placa foram dispostas cinco sementes igualmente espaçadas para cada amostra sendo com quatro repetições num total de 20 sementes por amostra.

As sementes de caupi foram inicialmente desinfestadas por 5 min em imersão de solução de hipoclorito de sódio (NaOCl), a 1,5% de cloro ativo, seguida de duas lavagens com água esterilizada.

Após a realização do plaqueamento as sementes foram incubadas a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 h sob luz branca fluorescente conforme Figura 2B pelo período de sete dias.

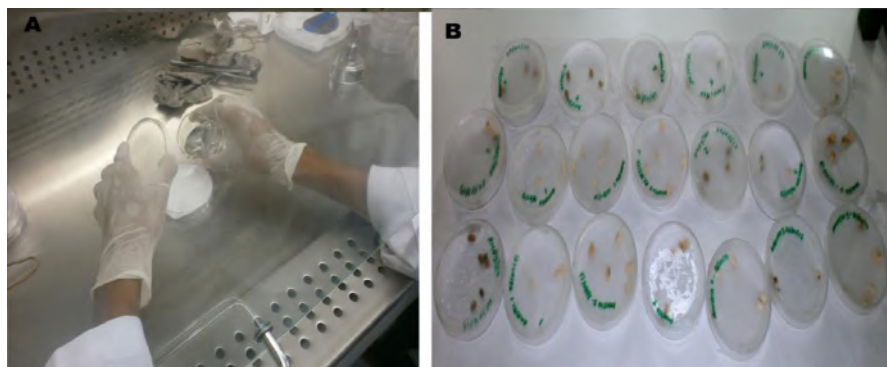


Figura 2. Realização do isolamento em papel filtro. **A**, Umedecimento do papel filtro com água destilada esterilizada (ADE); **B**, Sementes plaqueadas em placas de Petri.

4.4. Caracterização morfológica e visualização das estruturas fúngicas

Após os sete dias de incubação realizou-se a caracterização visual das colônias que se desenvolveram sobre as sementes baseando-se nas características morfológica e desenvolvimento fúngico apresentado em cada amostra. Posteriormente as colônias foram isoladas para meio de cultivo batata-dextrose-ágar (BDA) através do método de repicagem das estruturas fúngicas para obtenção de cultura pura.

O método de repicagem consiste no isolamento de microrganismo para posterior identificação de acordo com sua taxonomia. Foi realizado com a retirada de fragmentos dos corpos de frutificação e esporos apresentados sobre a superfície das sementes.

A partir das características morfológicas apresentadas as colônias foram isoladas separadamente sendo colocadas em quatro pontos equidistantes da placa de Petri contendo meio de cultivo batata-dextrose-ágar (BDA). Após o procedimento as placas permaneceram em fotoperíodo de 12 h sob luz branca fluorescente pelo período de sete dias.

Para a identificação das espécies fúngicas foram realizadas montagem de lâminas coradas com corante Azul de Amann, e observação das estruturas ao microscópio óptico. A preparação de lâminas foi realizada em câmara de fluxo laminar após a assepsia dos materiais a serem utilizados como palitos, pinças, lâminas e lamínulas. Consistiu na retirada de pequenos fragmentos das colônias fúngicas isoladas e colocados com o auxílio de palito

autoclavados sob o corante azul de Amann para posteriormente serem visualizados em microscópio ótico.

4.5. Avaliação dos extratos de Alho e Andiroba

4.5.1. Preparação dos extratos

Na preparação dos extratos, foram utilizados 100 g dos materiais vegetais bulbos de alho (*Allium sativum* L.); e folhas de andiroba (*Caraba guianensis*) conforme a Figura 3 A. Cada material vegetal foi triturado em liquidificador contendo 250 mL de água destilada esterilizada (ADE) e 250 mL de álcool etanólico (P.A.), colocados em um recipiente de vidro e submetidos, por um período 96 horas, ao processo de extração por maceração Figura 3 B. Posteriormente, os extratos foram filtrados através de papel de filtro esterilizado e mantidos em recipiente aberto durante 72 horas, para favorecer a evaporação do álcool figura 3 C.

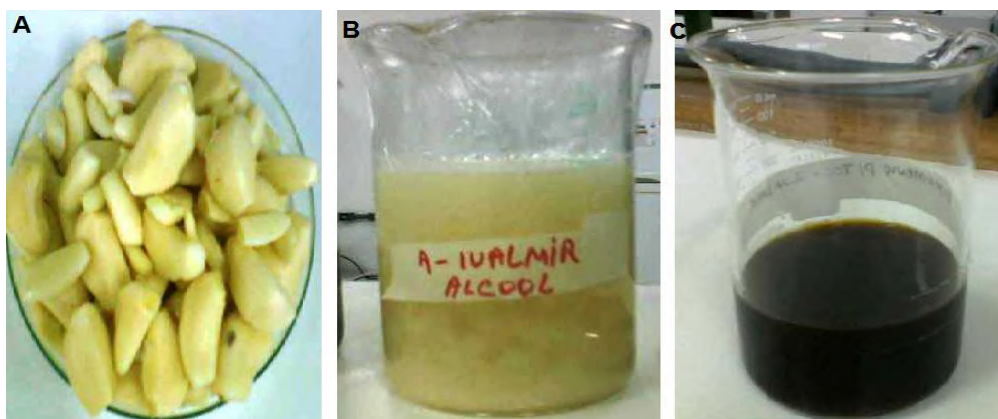


Figura 3. Preparação do extrato de alho. **A**, Bulbos de alho (*Allium sativum* L.); **B**, Extrato submetido ao processo de extração por infusão; **C**, Extrato de andiroba (*Caraba guianensis*) em processo de evaporação do álcool.

Após esse período os materiais foram submetido à radiação ultravioleta por 30 minutos (UV), de acordo com metodologia adaptada de Rodrigues et al., (2006). Posteriormente os extratos foram adicionados em erlenmeyers (Figura 4) sendo mantidos em geladeira até o seu uso.



Figura 4. Extrato alcoólico pronto. A, extrato de alho; B, Extrato de andiroba.

4.5.2. Utilização dos extratos nas sementes de feijão caupi.

Os procedimentos de incubação mais empregados no teste de sanidade de sementes são os métodos do papel de filtro, também chamado “blotter test”. Após o período de preparação dos extratos foi realizado tratamento das sementes com a utilização dos mesmos para verificar sua eficiência no controle de fitopatógenos.

Para a realização desta etapa as sementes foram colocadas em caixas plásticas transparentes, previamente desinfestadas por exposição à luz ultravioleta (UV) durante 20 minutos em câmara de fluxo laminar.

As sementes de caupi foram inicialmente desinfestadas por 5 min em imersão de solução de hipoclorito de sódio (NaOCl), a 1,5% de cloro ativo, seguida de duas lavagens com água esterilizada. As sementes foram plaqueadas em caixas plásticas, previamente desinfestadas por exposição à luz ultravioleta (UV) durante 20 min, contendo papel de filtro esterilizado e umedecido com 5 ml de água destilada e estéril. A metodologia utilizada está de acordo com Brasil (2009), para teste de sanidade em sementes.

As amostras das sementes foram distribuídas individualmente após a imersão durante três minutos na solução a 100% dos extratos de alho e andiroba em cada tratamento e igualmente espaçada em cada caixa plástica de acordo com a Figura 5. Para cada amostra foram utilizadas três repetições com os dois tratamentos, sendo um contido de extrato de alho e outro de extrato de andiroba e mais um tratamento (testemunha) com apenas água destilada.

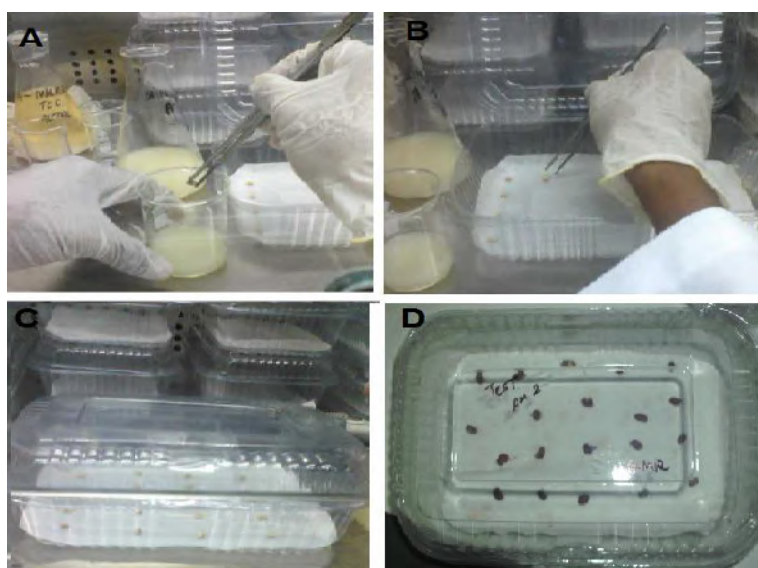


Figura 5. Tratamento das amostras de feijão caupi. **A**, Tratamento com extrato de alho; **B**, Semente adicionada a caixa plástica contendo papel filtro; **C**; Semente já tratada com o extrato vegetal; **D**, Testemunha tratada apenas com água destilada esterelizada (ADE).

A incubação transcorreu em temperatura ambiente de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, sendo no oitavo dia realizadas as observações das sementes sob microscópio ótico. A metodologia utilizada está de acordo com a utilizada por Rocha (1975).

Após esse período foram quantificados porcentagem de sementes por amostra que germinaram, considerando como germinadas as que apresentavam caulículo e radícula.

Avaliou-se também a quantidade de sementes que apresentavam incidência de fitopatógenos e de amostras em que os extratos obtiveram melhores resultados na sua aplicação.

O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com dois tratamentos e três repetições mais uma testemunha, cada plástica contendo 20 sementes num total de 90 sementes por amostra.

4.5.3. Avaliação do crescimento micelial através da utilização dos extratos.

A avaliação dos extratos vegetais sob o crescimento micelial foi realizada determinando-se a porcentagem da inibição do desenvolvimento

fúngico em placas de Petri contendo o meio batata-dextrose-ágar (BDA), acrescido das diferentes concentrações dos extratos de alho e extrato de andiroba de 5, 10, 15 e 100%.

O meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) foi distribuído em erlenmeyers e esterilizado em autoclave a 120°C por 20 minutos. Durante o resfriamento e antes da solidificação foi adicionado ao BDA os extratos de maneira a serem obtidas as diferentes proporções destes produtos testados, efetuando-se em seguida a distribuição em placas de Petri.

Após a solidificação do meio de cultura foi repicado no centro da placa um disco micelial (0,5 mm de diâmetro), de *Fussarium* sp. e *Penicillium* sp. O tratamento testemunha consistiu na repicagem do fungo no meio de cultura BDA puro.

O Delineamento utilizado foi inteiramente casualizado com dois tratamentos (extrato de alho e andiroba), quatro concentrações 5, 10, 15, 100% e três repetições mais a testemunha.

As placas foram mantidas em temperatura ambiente a $25 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas. Realizou-se a medição das colônias com auxílio de régua milimetrada no sétimo dia do experimento para a avaliação do crescimento micelial.

Os resultados tiveram análise de variância realizados com auxílio do programa estatístico SISVAR v. 4.2 (FERREIRA, 2003) e comparação de médias pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Identificação dos fungos fitopatogênicos nas sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) pelo método de papel filtro.

Após os sete dias de incubação foram verificados a presença de fitopatógenos nas sementes das cinco amostras utilizadas no experimento através do método do papel filtro conforme Figura 6. As cinco amostras apresentaram grande diversidade de colônias fúngicas sobre a semente sendo as mesmas isoladas com base nas suas características morfológicas apresentadas pelo processo de repicagem.

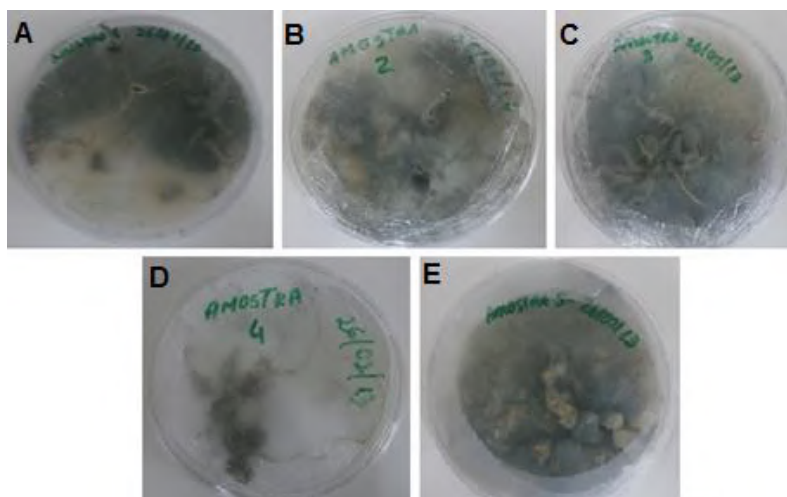


Figura 6. Colônias fúngicas após os 7 dias de incubação em substrato papel filtro em placas de Petri. **A**, amostra 1; **B**, Amostra 2; **C**, Amostra ; **D**, Amostra 4 e **E**, amostra 5.

Gasparotto et al. (2009), afirma que o teste em papel-filtro é apropriado para as infecções acompanhadas por hifas, frutificações ou por esporos, sendo eficaz para detectar a maioria de fungos veiculados por sementes. Agarwal; Sinclair (1987), mencionam ainda que o método é eficiente na identificação com base na morfologia fúngica desenvolvida durante a incubação no papel-filtro .

Após a repicagem das estruturas fúngicas em meio BDA observou-se o desenvolvimento das colônias com as variadas características morfológicas apresentadas em cada amostra de semente conforme Figura 7 A a 7H.

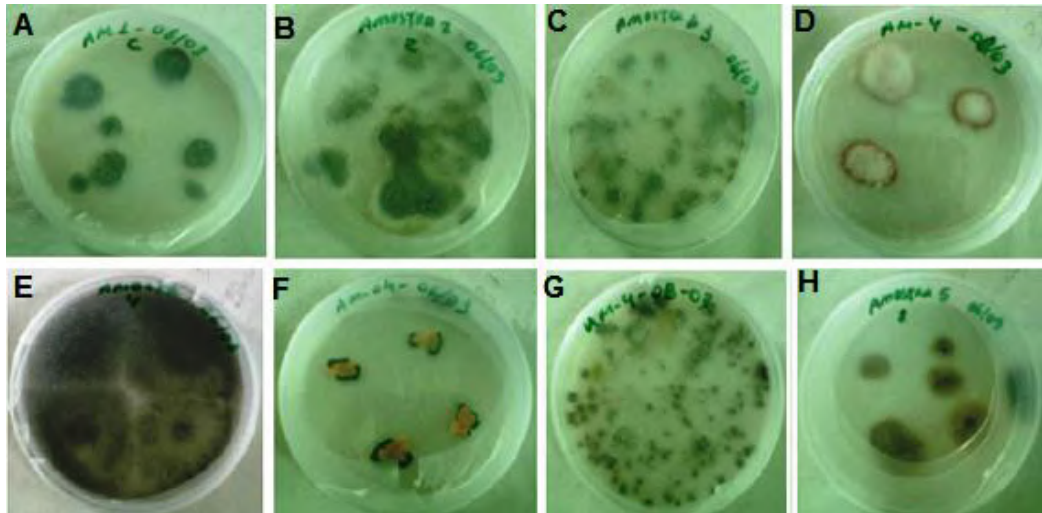


Figura 7. Colônias fúngicas após a repicagem em meio de cultivo BDA. **A**, amostra 1; **B**, amostra 2; **C**, amostra 3; **D**, **E** e **F**, amostra 4; **H**, amostra 5

Resultados encontrados por Cavalcanti et al., (2002); Sartorato & Rava (1997) a partir de colônias que se desenvolveram sobre as sementes e o isolamento dos fungos e das características estruturais, observadas em microscópico óptico e as culturais em meio batata-dextrose-ágar (BDA), foram semelhantes às descritas na literatura para o gênero *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. e *Fusarium* sp.

As espécies fúngicas identificadas que apresentaram maior ocorrência na maioria das amostras foram as do gênero *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp., e menor frequência as do gênero *Fusarium* sp. de acordo com a tabela 1.

De acordo com Torres & Bringel (2005) os gêneros *Aspergillus* sp. e *Penicillium* sp. são fungos de armazenamento comuns em sementes de feijão Caupi, verificaram ainda a presença desses fungos, com índices inferiores ou iguais em média de 51 % de *Aspergillus niger* e 45 % de *A. flavus*, em sementes de feijão caupi do Rio Grande do Norte.

TABELA 1. População fúngica endofítica associada à semente de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) identificados nas amostradas coletadas na feira livre da cidade de Humaitá/AM

Amostra de Caupi	Fungos/gênero
AM1	<i>Penicilium</i> sp
AM2	<i>Penicilium</i> sp/ <i>Aspergillus</i> sp
AM3	<i>Aspergillus</i> sp
AM4	<i>Penicilium</i> sp/ <i>Fusarium</i> sp
AM5	<i>Penicilium</i> sp/ <i>Aspergillus</i> sp

*AM - amostra

Torres & Bringel (2005) afirmam ainda que os danos causados pelas espécies de *Aspergillus* e *Penicilium* são variáveis, como perda de germinação, aumento da taxa de ácidos graxos, descoloração da semente, alterações bioquímicas, produção de toxinas danosas ao homem e a outros animais e redução do peso seco da semente.

De acordo com Agarwal & Sinclair (1987), o fungo *Aspergillus* permanece por muito tempo nas sementes e normalmente não causa doença em condições de campo, desempenhando, entretanto, importante papel na deterioração das sementes durante o armazenamento, além de produzirem toxinas que afetam sua qualidade.

Segundo Sallis (2001) dentre os fungos do gênero *Fusarium*, há espécies não patogênicas, que podem ocorrer com maior frequência, não tendo nesse caso, muita relevância para a cultura. Por outro lado, *Fusarium oxysporum* e *Fusarium solani* são importantes para a cultura, podendo causar doenças como fusarioses altamente prejudiciais, capazes de causar sérias perdas de produção, se o feijão caupi for cultivado em solos que contenham o patógeno. A sua importância está relacionada, principalmente, à alta patogenicidade do agente causal, sua transmissibilidade pelas sementes e a capacidade de sobreviver no solo, mesmo na ausência do hospedeiro específico.

5.2. Observação da incidência de fitopatógenos no potencial de germinação das sementes de feijão caupi tratadas com extratos vegetais de Alho (*Allium sativum* L.) e Andiroba (*Caraba guianensis*).

De um modo geral, apesar da alta porcentagem de germinação das sementes foi observada a influência negativa dos fungos no vigor das mesmas.

As sementes que não germinaram, geralmente apresentavam-se totalmente recobertas por colônias de fitopatógenos (Figura 8). Esse resultado demonstra que a presença de fitopatógenos nas sementes de caupi pode inibir o potencial de germinação das sementes quando encontrados em grande proporção.

Os fitopatógenos sobre a superfície da semente apresentavam as características morfológicas semelhantes a mencionadas anteriormente para os gêneros *Aspergillus* sp, *Penicilium* sp. e *Fusarium* sp. sendo os quais corresponderam a maior porcentagem do total de colônias obtidas. Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira (1981).

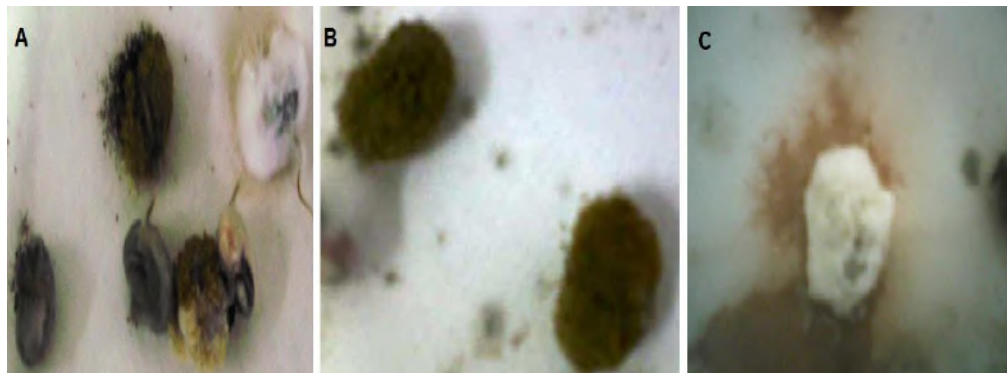


Figura 8. A; B; C, Influência dos fitopatógenos no potencial de germinação das sementes.

Ribeiro e Bedendo (1999) obtiveram resultados que comprovam a atividade antifúngica do extrato de alho onde o mesmo observaram que o extrato inibiu significativamente o desenvolvimento dos fungos *Aspergillus* sp em relação as demais concentrações e a testemunha.

Melo et al. (2006) também obtiveram uma inibição de 100% do crescimento dos fungos *Curvularia* sp., *Aspergillus* sp., *Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp. e *Chaetomium* sp.

De acordo com a Figura 9 as amostras de feijão caupi analisadas no experimento apresentaram maior porcentagem de germinação em relação à testemunha quando tratadas com os extratos vegetais utilizados.

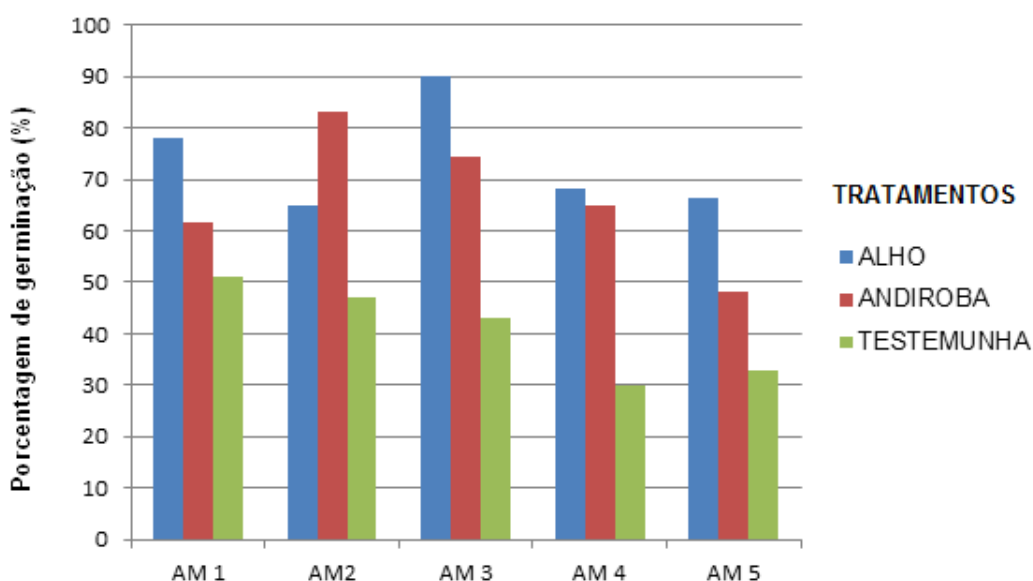


Figura 9. Porcentagem de germinação das sementes de feijão caupi tratadas com extratos de alho e andiroba

Os tratamentos com os extratos de alho e andiroba apresentaram maior porcentagem de germinação das sementes, em contrapartida a testemunha apresentou menor porcentagem de germinação e maior incidência de fitopatógenos, sendo a possível causa da baixa quantidade de sementes germinadas.

O extrato de alho foi que apresentou maior resultado com até 90% de sementes germinadas na amostra três mostrando que com o tratamento da semente houve redução da quantidade de fitopatógenos e consequentemente as sementes germinaram com maior facilidade. O mesmo resultado pode ser observado em relação ao extrato de andiroba em que as sementes quando tratadas obtiveram maior porcentagem de germinação em comparação com a testemunha.

A testemunha tratada apenas com água destilada nas cinco amostras analisadas apresentaram menor taxa de germinação das sementes e perda do vigor e maior ocorrência de fitopatógenos.

Espécies de *Fusarium* também foram relatadas por Rodrigues & Menezes (2002) segundo esses autores podem causar inibição na germinação de sementes de cultivares de feijão Caupi, causando baixo poder germinativo e podem apresentar crescimento do fungo sobre os cotilédones e folhas primárias, além de necrose na radícula.

Estudos de Teófilo (2006) relativos à germinação de seis cultivares de feijão caupi provenientes de municípios cearenses demonstraram percentual de germinação entre 69 % e 88 %.

Marques et al. (2006) avaliaram sementes de feijão comum, com valores de germinação abaixo do padrão, sendo a média 64 % na cultivar Pérola produzida em Minas Gerais e 62 % na cultivar Talismã, do Estado de Goiás.

Em relação à incidência de fungos nas sementes mostrou-se que com os tratamentos com os extratos de alho e andiroba houve menor incidência de fungos nas sementes em comparação com a testemunha. Onde o extrato de alho demonstrou menor porcentagem de incidência de fungos nas sementes após os sete dias de incubação.

O extrato de andiroba também apresentou melhor resultado em comparação com a testemunha. A testemunha apresentou grande quantidade de fungos na superfície das sementes tendo porcentagem superior aos tratamentos com extratos de alho e andiroba como pode ser observado na Figura 10.

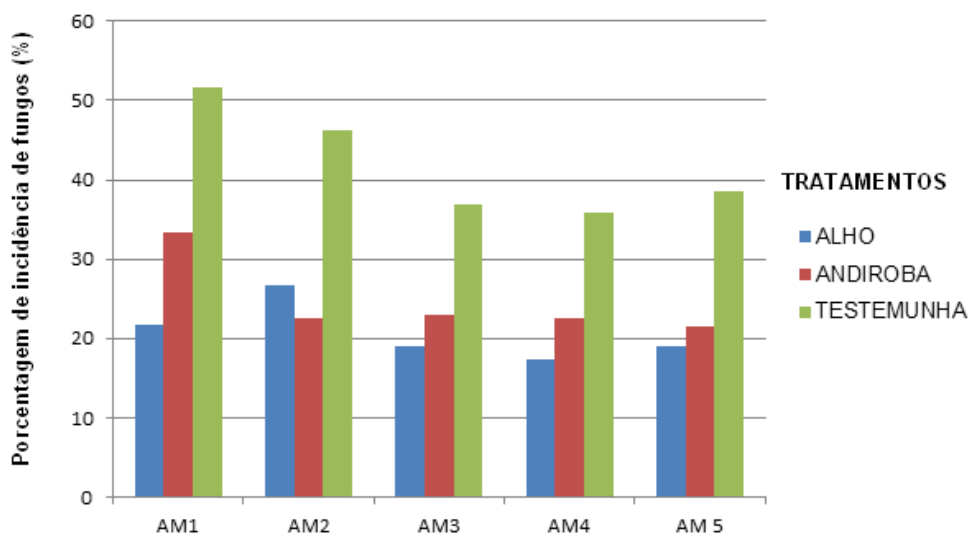


Figura 10. Incidência de fungos nas sementes de feijão caupi após o tratamento com extratos de alho e andiroba

De acordo com Lobato et al. (2006), produtos vegetais vêm sendo testados com relação a controle de patógenos de sementes e a importância disto enfatiza o emprego de plantas com comprovadas atividades antimicrobianas na forma de extratos e óleos essenciais.

Carvalho et al. (1999) afirmaram que sementes predispostas à ação de microrganismos, quando tratadas, reduzem a capacidade de sobrevivência dos fitopatógenos e potencializam a longevidade das sementes, seu poder germinativo e o vigor das futuras plantas.

Segundo Pinto (1999), os fungos do gênero *Fusarium* são importantes para a cultura do feijão-caupi, pois há espécies que são patogênicas e promovem redução na germinação e tombamento de plântulas.

Os resultados encontrados por Francisco (2001) mostram valores superiores, onde *Penicillium sp.* apresentaram as maiores incidências (80 a 100 %), em de feijão comum (*Phaseolus vulgaris*).

De acordo com Oliveira (1981), a alta frequência desses organismos parece estar relacionada com a idade e com as condições de armazenamento das sementes, visto se tratarem de fungos de armazenamento e de acordo com as condições de armazenamento, esses fungos podem comprometer a qualidade das sementes, reduzindo assim o seu poder germinativo, ocasionando a morte de embriões.

5.3. Avaliação do crescimento micelial através da utilização dos extratos.

A partir da utilização dos extratos vegetais de alho e andiroba *in vitro* observou-se redução no crescimento micelial dos fungos utilizados como pode ser observado na Figura 11. As quatro concentrações testadas com os respectivos extratos apresentaram melhor resultado em comparação a testemunha.

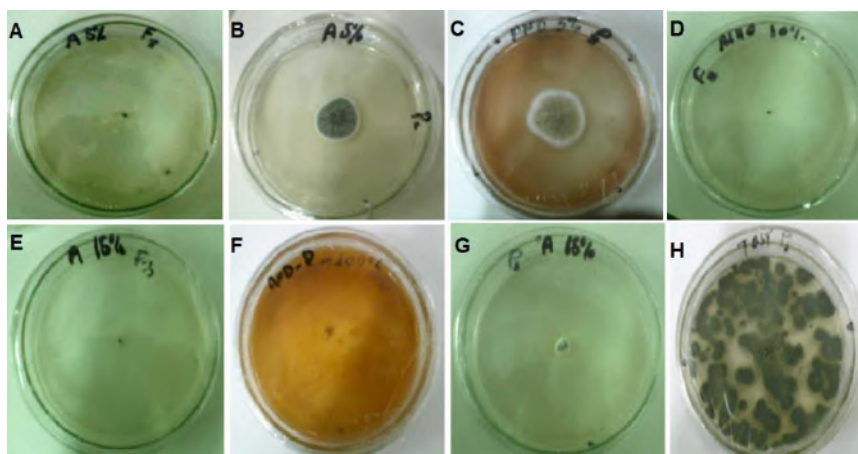


Figura 11. Avaliação do crescimento micelial *in vitro* de *Penicillium* sp e *Fusarium* sp com extrato de alho e andiroba.

Os resultados do efeito dos extratos vegetais sobre o crescimento micelial dos fungos *Fusarium* sp e *Penicillium* sp *in vitro* estão apresentados na Tabela 2. O resultado da análise de variância indicou eficiência na atividade antifúngica dos extratos vegetais sobre os fitopatógenos utilizados no estudo a partir do aumento nas concentrações houve diminuição no crescimento micelial destes fungos.

TABELA 2. Crescimento micelial de *Penicillium* sp e *Fusarium* sp submetidos a diferentes concentrações de extrato de alho e andiroba

Concentrações (%)	Extratos	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Penicillium</i> sp.
5	Alho	0a	2,0c
	Andiroba	1,2d	2,4cd
10	Alho	0a	1,7b
	Andiroba	0,6c	2,1c
15	Alho	0a	0,5a
	Andiroba	0,4b	1,7b
100	Alho	0a	0,3a
	Andiroba	0,3b	0,5a
0	Testemunha	9e	9e
CV(%)		4,24	6,7

Média seguida da mesma letra na coluna não diferem pelo teste de Tukey a 5% probabilidade.

Os extratos alcóolicos de alho e andiroba foram eficientes na inibição do crescimento micelial nas concentrações estudadas sendo que nas concentrações de 15% as que ocorreram um controle bastante significativo.

O extrato de alho foi eficiente no controle do fungo *Fusarium sp* controlando em 100% o crescimento micelial deste fitopatógeno em todas as concentrações usadas. Para os fungos do gênero *Penicillium sp* todas as concentrações também se mostram eficientes como podem ser observados na Tabela 2.

O extrato alcoólico de andiroba utilizado neste experimento mostrou-se também eficiente no controle dos fungos inibindo o crescimento micelial principalmente do gênero *Fusarium sp* nas concentrações usadas apresentando um bom resultado principalmente nas concentrações a partir de 10%.

Ribeiro & Bebendo (1999) utilizando extrato de alho observaram inibição do crescimento radial da colônia em até 67,6%, utilizando o extrato a 10%. Lorenzi & Matos (2002) indicam que ervas aromáticas como o alho possuem ação bactericida, fungicida, pois apresentam em sua constituição química a alicina e a inulina, conferindo um alto potencial de controle de variados fitopatógenos.

Segundo Lo et al., (1996) o efeito de extratos vegetais sobre fungos pode estar relacionado com a presença de fitoalexinas que podem ter efeito danoso às células fúngicas como a granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas, que refletem na inibição da germinação, na redução ou inibição do crescimento micelial.

De acordo com Valarin et al., (2003) a aplicação de microrganismos antagônicos, extrato de plantas via semente ou no solo associada a outras práticas agrícolas pode se constituir uma opção potencial para o controle de fitopatógenos residentes do solo e ao equilíbrio biológico, bem como minimizar os problemas ambientais decorrentes do uso de agrotóxicos.

De acordo com Coutinho et al. (1999), a utilização de produtos naturais extraídos de vegetais tem a vantagem de redução de custos de produção e ausência de impacto ambiental causado pelos agroquímicos.

Bolkhan & Ribeiro (1981), constataram que o uso de extrato de bulbilhos de alho na concentração de 5000 ppm promoveu inibição entre 37 e 76 % no

desenvolvimento e crescimento do micélio de *Cylindrocladium clavatum*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* e *Rhizoctonia solani*, respectivamente.

Brand et al. (2006) estudando extrato de alho, obtiveram 100% de controle de *Trichoderma* spp., 94,4% de *Aspergillus* spp. e 47,2% de *Penicillium* sp.

Barros et. al., (1995) demonstraram em seus estudos o efeito do extrato de alho sobre o crescimento micelial e germinação de conídios de *Curvularia* sp. e *Alternaria* sp., apresentando inibição do crescimento micelial, com extrato concentrado, preparado com 5 g de bulbos de alho descascados em 100 mL de água, com trituração por 3 minutos.

French (1992), afirma que muitos compostos químicos voláteis podem estimular ou inibir o desenvolvimento e a germinação de esporos de fungos em determinadas concentrações.

Souza et al., (2007), constatam que os extratos obtidos das plantas de alho apresentam-se eficientes na inibição do crescimento de *Fusarium proliferatum*.

6. CONCLUSÃO

- O método do papel filtro foi eficiente no isolamento e identificação de fungos fitopatogênicos nas sementes de feijão Caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) onde foram encontrados os gêneros *Penicilium* sp. *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp.;

- O tratamento das sementes de feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) com os extratos vegetais de Alho (*Allium sativum* L.) e Andiroba (*Caraba guianensis*) reduziram a incidência fitopatogênicos através do método de papel filtro (Blotter Test).

- Os extratos vegetais de Alho (*Allium sativum* L.) e Andiroba (*Caraba guianensis*) mostraram-se eficientes sobre o crescimento micelial de *Penicilium* sp e *Fusarium* sp *in vitro*.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWAL, V.K.; SINCLAIR, J. B. **Principles of seed pathology**. Boca Raton: CRC Press, 175 p. 1987.

ASSUNÇÃO, I.P., MICHEREFF, S.J., MIZUBUTI, E.S.G. & BROMMONSCHENKEL, S.H. **Influência da intensidade da murcha-de-fusário no rendimento do caupi**. Fitopatologia Brasileira 28:615-619. 2003.

ASSUNÇÃO, I.P.; MICHEREFF, S.J.; MIZUBUTI, E.S.G.; BROMMONSCHENKEL, S.H. **Influência da intensidade da murcha-de-fusário no rendimento do caupi**. Fitopatologia Brasileira, Brasília, v.28, n.6, p.615-619, 2003.

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.

BENICIO, V., ARAÚJO, E., BENICIO, M.J. & FELISMINO, D.C. **Identificação e características culturais de espécies do gênero *Aspergillus* isoladas de sementes de feijão no Estado da Paraíba**. Fitopatologia Brasileira 28:180-183. 2003.

BOLKHAN, H.A.; RIBEIRO, W.L. **Efeito do extrato de alho em *Cylindrocladium clavatum*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* e *Rhizoctonia solani***. Fitopatologia Brasileira. 6, 565-566. 1981.

BRAND et al. **Extratos vegetais no controle de patógenos em sementes de cebola**. 2006. IN: XIII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IX Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 395p. 2009.

CAMATTI-SARTORI, V.; MAGRINI, F. E. ; CRIPPA, L. B. MARCHETT, C.; VENTURIN, L.; SILVA-RIBEIRO, R. T. **Avaliação in vitro de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores**. Rev. Bras. de Agroecologia. 6(2): 117-122- 2011.

CARVALHO, R.A.; CHOAIKY, S.A.; LACERDA, J.T.; OLIVEIRA, E.F. **Effect of plants with antibiotic properties on the control of *Fusarium* sp.** Abstracts, International Plant Protection Congress, Israel. p. 28. 1999.

CAVALCANTI, L. S.; COELHO, R. S. B.; PEREZ, J. O. **Utilização de dois métodos de inoculação na avaliação da resistência de cultivares e linhagens de feijoeiro a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli***. Ciência Rural, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 1-5, 2002.

COUTINHO, W. M.; ARAÚJO, E.; MAGALHÃES, F. H.L. **Efeito de extratos de plantas anacardiáceas e dos fungicidas químicos benomyl e captan sobre a microflora e qualidade fisiológica de sementes de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L)**. Ciência e Agrotecnologia, Lavras, v. 23, n. 3, p. 560-5668, jul./set. 1999.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo de feijão-Caupi**. Embrapa meio norte. Sistema de Produção, 2. Jan/2003. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>. Acesso: 25 de maio de 2013.

FERREIRA, D. F. Análises Estatísticas por meio do Sisvar para Windows 4.0. In: **reunião anual da região brasileira da sociedade internacional de biometria**, 45., 2000, São Carlos. Anais... São Carlos: UFSCAR, 2000. p. 255-258. FERREIRA, D.F. Sisvar: versão 4.2. Lavras: UFLA, 2003.

FRANCISCO, F.G. **Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão, com diferentes graus de umidade, em armazenamento hermético a temperaturas constantes.** 58 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola da Faculdade de Engenharia Agrícola da Universidade Estadual de Campinas), Campinas, Fevereiro, 2001.

FRENCH, R.C. **Volatile chemical germination stimulators of rust and other fungal spores.** *Mycologia*, v.84, n.3, p.277-288, 1992.

GOMES, D. P., SILVA, G. C., KRONKA, A. Z., TORRES, S. B., SOUZA, J. R. **QUALIDADE FISIOLÓGICA E INCIDÊNCIA DE FUNGOS EM SEMENTES DE FEIJÃO CAUPI PRODUZIDAS DO ESTADO DO CEARÁ.** *Caatinga (Mossoró,Brasil)*, v.21, n2, p. 165 -171. 2008.

ITO, M. F.; COSTA, A. F.; PIRES, B. E.; CANUTO, V.T.B.; OLIVEIRA, L.G.; SOUZA, M.C.M. Sanidade de sementes de feijão-caupi. III Congresso Nacional de Feijão Caupi-CONAC. Recife/Pe. 2013.

JÚNIOR, A.S.A.; BARROS, A.H.C.; SILVA, C.O.; FREIRE FILHO, F.R. **Zoneamento de risco climático para a cultura do feijão-caupi no Estado do Ceará.** *Revista Ciência Agronômica*, v.38, n.1, p.109-117.2007.

LO, S.C.; WEIERGANG, I.; BONHAM, C.; HIPSKIND, J.; WOOD, K.; NICHOLSON, R.L. **Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin.** *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.49, n.1, p.2131, 1996.

LOBATO, A.K.S.; SANTOS, D.G.C.; OLIVEIRA-NETO, C.F.; OLIVEIRA, F.C.; COSTA, R.C.L.; SILVA, M.H.L. **Eficiência do óleo essencial de *Piper aduncum* L. no controle fúngico em sementes de feijão-caupi.** 2006.

LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**, 1. ed. Nova Odessa: Editora Plantarum. p. 512. 2002.

LUCCA FILHO, O.A. **Metodologia dos testes de sanidade de sementes.** In: SOAVE, J.; WETZEL, M.M.V. da S. (Ed.) Patologia de Sementes. Campinas: Fundação Cargill, p. 276-298, 2006.

ITO, M. F.; COSTA, A. F.; PIRES, B. E.; CANUTO, V.T.B.; OLIVEIRA, L.G.; SOUZA, M.C.M. **Sanidade de sementes de feijão-caupi.** III Congresso Nacional de Feijão Caupi-CONAC. Recife/PE. 2013.

MAIA, A. J.; MARCONDES, M. M.; MARCONDES, M. M.; BALDIN, I. ; LEITE, C. D.; FARIA, C. M. D. R.; ROSAL, L. F. FARIA, M. V. **Inibição do desenvolvimento in vitro de *Penicillium* sp. por extrato aquoso de alho.** *Anais da SIEPE – Semana de Integração Ensino, Pesquisa e Extensão* 26 a 30 de outubro de 2009.

MELO, C. P. de; SANTOS, S. da C. **Utilização de extratos vegetais na patologia de sementes de melão amarelo.** 4. ed. Porto Alegre: UFRGS, 2002. 871 p. 2006.

NASCIMENTO, H. T. S. do; FREIRE FILHO, F. R.; ROCHA, M. M.; RIBEIRO, V. Q.; DAMASCENO-SILVA, K. J. **Produção, avanços e desafios para cultura do feijão-caupi no brasil.** In: congresso nacional de feijão-caupi, 2; reunião nacional de feijão-caupi, 7., 2009, Belém, PA. Da agricultura de subsistência ao agronegócio: Anais. Belém, PA: Embrapa Amazônia Oriental, 2009.

NEVES, A. C.; CÂMARA, J. A. S.; CARDOSO, M. J.; SILVA, P. H. S.; SOBRINHO, C. A. **Cultivo do Feijão-caupi em Sistema Agrícola Familiar.** Embrapa Meio Norte. Circular técnica, 51. Teresina/Pi. 2001.

OLIVEIRA, A.P.; SILVA, V.R.F.; ARRUDA, F.P.; NASCIMENTO, I.S.; ALVES, A.U. **Rendimento de feijão-caupi em função de doses e formas de aplicação de nitrogênio.** *Horticultura Brasileira*, Brasília, v. 21, n. 1, p. 77-80, março 2003.

PASTRO, D. C.; L. C. PASCUALI; D. O. SANDRI; S. PIOLI ZELA; F. S. SILVA. **Diagnóstico de extratos vegetais com potencial para o controle fúngico.** ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.8, N.14; p. 2012.

PEREIRA, L. A. A.; COUTINHO, W. M.; MACHADO, J. C.; MAGALHÃES, F. H. L.; PENA, R. C. M. **Fungitoxicidade *in vitro* de iprodione sobre o crescimento micelial de fungos que se associam a sementes de arroz.** *Revista Brasileira de Sementes*, vol. 24, nº 1, p.67-70, 2002.

PINTO, N. F. J.A. **Patologia de sementes de sorgo.** (Circular Técnica, 32). Sete Lagoas: EMBRAPA-CNPMS, 1999.

RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I. P. **Efeito inibitório de extratos vegetais sobre Colletotrichum gloesporioides – Agente causal da podridão dos frutos de mamoeiro.** *Scientia agrícola*, Piracicaba, v.56, n.4, p.1267-1271, 1999.

RODRIGUES, A. A. C; MENEZES, M. **Detecção de fungos endofíticos em sementes de caupi provenientes de Serra Talhada e de Caruaru, Estado de Pernambuco.** *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v.27, n.5, p. 532-537, 2002.

SALLIS, M.G.V.; LUCCA-FILHO, O.A.; MAIA, M.S. **Fungos associados às sementes de feijão-miúdo (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) produzidas no município de São José do Norte, RS.** *Revista Brasileira de Sementes*, Londrina, v. 23, n.1, p.36-39, 2001.

SARTORATO, A.; RAVA, C. A. **Principais doenças do feijoeiro comum e seu controle.** (Embrapa-CNPAP. Documentos, 50). Brasília: Embrapa-SPI, 300 p. 1997.

SILVA, G.C., GOMES, D.P., SANTOS, C.C. **Sementes de feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. (Walp), tratadas com extrato de folhas de nim (*Azadirachta***

indica A. Juss.) avaliação da germinação e da incidência de fungos. *Scientia Agraria, Curitiba, v.12, n.1, p.019-024, Jan/Feb. 2011.*

SILVA, J. L.; TEIXEIRA, R. N. V.; SANTOS, D. I. P. ; PESSOA. J. O.; **ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS VEGETAIS SOBRE O CRESCIMENTO IN VITRO DE FITOPATÓGENOS.** *Revista Verde (Mossoró – RN – Brasil) v.7, n.1, p. 80 – 86 janeiro marco de 2012.*

SILVA, J.A; PEGADO, C.M. A; RIBEIRO, V.V; BRITO, N.M; NASCIMENTO, L.C. **Efeito de extratos vegetais no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em sementes de caupi.** *Ciênc. agrotec., Lavras, v. 33, n. 2, p. 611-616, mar./abr., 2009.*

SILVA, L. R.; CARVALHO, A. C.; LIMA, I. C.; AGUIAR, O. R.; I.L. S. S. SILVA. **Efeito inibitório do extrato alcoólico de salva do marajó (*Hyptis crenata*) SOBRE *Bipolaris* sp.** *Anais do 8º Seminário Anual de Iniciação Científica e 2º Seminário de Pesquisa da UFRA. 2010.*

SOUZA, A.E.F. **Atividade antimicrobiana de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium moniliforme* isolado de grãos de milho.** Areia, PB, 91f. Dissertação (Mestrado em Agronomia), Universidade Federal da Paraíba, UFPB. 2007.

TEÓFILO, E. M.; DUTRA A.S.; DIAS, F.T.C. **Avaliação da qualidade fisiológica de sementes de feijão-caupi produzidas em dois municípios cearenses.** IN: CONGRESSO NACIONAL DE FEIJÃO CAUPI, Tecnologia para o Agronegócio, 2006, Teresina-PI, Anais, Rio Poty Hotel, 2006.

TORRES, S.B.; BRINGEL, J.M.M. **Avaliação da qualidade sanitária e fisiológica de sementes de feijão-macassar.** *Caatinga, Mossoró, v.18, n.2, p.88-92, 2005.*

VALARIN, P. J.; MELO, I. S. de; MORSOLETTI, R. V. **Controle alternativo da podridão radicular do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L).** *Summa Phytopathologica*, Jaboticabal, v. 29, n. 4, p. 334-339, jan./mar. 2003.

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

VENTUROSOS, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; CONUS, L.A.; PONTIM, B.C.A.; SOUZA, F.R. **Inibição do crescimento *in vitro* de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais.** *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.78, n.1, p.89-95, jan./mar., 2011.

VENTUROSOS, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; PONTIM, B.C.A.; CONUS, L.A. **Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais.** *Rev. Bras. Pl. Med.*, Botucatu, v.12, n.4, p.499-505, 2010.