

ATIVIDADE ANTIFÚNGICA DE EXTRATOS DE MELÃO-DE-SÃO-CAETANO

(*Momordica charantia* L.) SOBRE *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx.

MERCIA IKARUGI BOMFIM CELOTO

Engenheira Agrônoma

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marli de Fátima Stradioto Papa

Dissertação apresentado à Faculdade de Engenharia – Campus de Ilha Solteira – Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, para obtenção do Título de Mestre em Agronomia, Área de Concentração em Sistemas de Produção.

ILHA SOLTEIRA

Estado de São Paulo – Brasil

Julho – 2005

*Aos meus pais José e Kazue, por todo carinho, afeto, amor e compreensão,
dedicados a mim e aos meus irmãos. Minha eterna gratidão.*

*Ao meu amado esposo Fernando Celoto pelo amor, carinho e cumplicidade em
todos os momentos.*

*Ao meu filho Fernando Ikarugi Bomfim Celoto realização maior da
minha vida.*

DEDIÇÃO

*Aos meus irmãos Márcio, Márcia e Maércio, aos meus cunhados Vilson e
Janaina, aos meus sobrinhos Kaio Henrique e Mellissa Sayuri e a minha
avó Shigeko pela amizade e carinho.*

OFERECER

AGRADECIMENTOS

- À Deus, pai de todos nós, que proporcionou forças para atravessar mais um desafio.
- À Universidade Estadual Paulista – Campus de Ilha Solteira, pela oportunidade.
- À Prof^a. Dr^a. Marli de Fátima Stradioto Papa, minha orientadora, pela amizade, confiança e principalmente pelos ensinamentos profissional e pessoal.
- À Prof^a. Dr^a. Ana Maria Cassiolato e à Prof^a. Dr^a. Marineide Rosa Vieira, pela amizade, ensinamentos, críticas e sugestões à dissertação.
- Ao Prof. Dr. Geraldo Papa pela amizade e correção do abstract.
- Ao Prof. Dr. João Antônio Andrade pela amizade e auxílio na análise estatística.
- Ao Prof. Dr. Enes Furlani Junior e ao Prof. Dr. Antonio Fernando Bergamaschine pelo auxílio na realização do trabalho.
- À banca examinadora, Prof. Dr. Luis Vitor Silva do Sacramento e Dr. César Júnior Bueno pelas críticas e sugestões à dissertação.
- Aos meus amigos Willian Takao, Heder Mosca, Evandro Prado, Norberto Cruz, Graziane Prezotto, Érika Naruzawa e Alexsander Seleguini pela amizade, companheirismo e preciosa ajuda na realização do trabalho.
- Aos colegas do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da FE/UNESP, pela amizade e companheirismo.
- Aos Pós-Graduandos Talles Eduardo, Germisom Tomquelski, Mauricio Rotundo, Cid Tacaoca, Larissa Lima, Eliana Cardoso, Fabiana Garcia, Maria Monteverde, Ednaldo Feltrin, Luciane Arantes, João Cláudio e Sueli Aquino da FEIS UNESP, pela amizade.
- Aos funcionários do Departamento de Fitossanidade, Engenharia Rural e Solos, em especial à Vera Lúcia e José Antônio, pela amizade e auxílio.
- Aos funcionários do Departamento de Biologia e Zootecnia, em especial ao Sidival, pela amizade e auxílio.
- Ao Funcionário Delcir da Fazenda de Ensino e Pesquisa da FE/UNESP pelo auxílio na realização dos ensaios *in vivo*.
- Aos funcionários da Biblioteca Central da FEIS/UNESP, em especial ao João Josué Barbosa, pela orientação e amizade.
- A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

CELOTO, M.I.B. **Atividade antifúngica de extratos de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) sobre *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx.** Ilha Solteira, 2005. 74f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O uso de extratos vegetais no controle de doenças de plantas está sendo pesquisado como alternativa aos fungicidas convencionais, devido serem apontados como seguros ao homem e não agressivos ao meio ambiente. Extratos de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*) foram testados *in vitro* e *in vivo* sobre *Colletotrichum musae*, fitopatógeno causador da antracnose em frutos de bananeira. Extratos aquoso e hidroetanólico adicionados ao meio de BDA (Batata-Dextrose-Ágar), na concentração de 50%, proporcionaram respectivamente 71% e 64% de inibição do crescimento micelial (ICM) do fungo, enquanto que em meio líquido, a ICM foi maior (86% e 81% respectivamente), provavelmente devido ao maior contato do meio com o fungo. Somente o extrato aquoso e o tiofanato metílico, nas concentrações de 50% e 1000µg.mL⁻¹, respectivamente, inibiram completamente a germinação de esporos do fungo. Os extratos metanólico e aquoso inibiram em 80% e 70%, respectivamente, o desenvolvimento das lesões de antracnose, quando aplicados até dois dias antes da inoculação do fungo, resultados próximos ao tratamento com tiofanato metílico que inibiu 80%. Os extratos metanólico e aquoso e o tiofanato metílico proporcionaram menores percentagens de frutos com a presença de esporulação visível nas lesões. A maturação dos frutos tratados com os extratos aquoso e hidroetanólico foi retardada em dois dias em relação aos frutos da testemunha.

Termos para indexação: *Musa* spp., antracnose, controle biológico, plantas medicinais.

CELOTO, M.I.B. **Antifungal activity of bitter melon (*Momordica charantia* L.) extracts to *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx.** Ilha Solteira, 2005. 74f. Dissertation (MS in Agronomy) – Faculdade de Engenharia de Ilha Solteira, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

Plant extracts for the control of plant disease are emerging as alternatives to conventional fungicides due to be pointed as safe to humans and environment. Bitter melon (*Momordica charantia*) extracts were screened *in vitro* and *in vivo* against the fungal banana tree fruits pathogen *Colletotrichum musae*. Aqueous and hidroetanolic extracts of bitter melon, at 50% concentration, in solid medium, provided respectively 71% e 64% of mycelial growth inhibition (MGI) of fungus, while in liquid medium, the MGI were bigger (86% and 81%, respectively), probably due to the better contact of medium with the fungus. Only the aqueous extracts and the metilic tiofanato, at the concentrations of 50% and 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectively, inhibited completely the spores germination of fungus. Metanolic and aqueous extracts inhibited on 80% e 70%, respectively, the lesions diameter, when applied until two days before of inoculation of fungus. This results were close to the metilic tiofanato, that inhibited the lesions diameter on 80%. Thoses extracts provided smaller percentages of fruits with visibles spores in the lesions. The maturation of the treated fruits with the aqueous and hidroetanolic extracts was delayed in two days in relation to the untreated fruits.

Indexing terms: *Musa* spp., anthracnose, biological control, medicinal plants.

LISTA DE FIGURAS

	Página
1 Sintomas da antracnose, causada por <i>Colletotrichum musae</i> , em bananas.....	18
2 Folhas, flores e frutos de melão-de-são-caetano (<i>Momordica charantia</i>).....	24
3 Percentagens de inibições do crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio sólido de BDA e concentrações (%) dos extratos aquoso e hidroetanólico de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP. 2005.....	38
4 Percentagens de inibições do crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio sólido de BDA e concentrações ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) dos extratos metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP. 2005.....	38
5 Efeito de quatro concentrações do fungicida tiofanato metílico no crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio sólido de BDA. Ilha Solteira, SP. 2005	40
6 Efeito de quatro concentrações de extratos aquoso (a) e hidroetanólico (b) de melão-de-são-caetano no crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio sólido de BDA. Ilha Solteira, SP. 2005.....	40
7 Efeito de quatro concentrações de extratos metanólico (a) e hidrometanólico (b) de melão-de-são-caetano no crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> , em meio sólido de BDA. Ilha Solteira, SP. 2005.....	41
8 Efeito de quatro concentrações de tiofanato metílico no crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> , em meio líquido de BD. Ilha Solteira, SP. 2005.....	44
9 Efeito de quatro concentrações de extratos aquoso (a) e hidroetanólico (b) de melão-de-são-caetano no crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> , em meio líquido de BD. Ilha Solteira, SP. 2005.....	44

10	Percentagens de inibições do crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio líquido de BD e concentrações (%) dos extratos aquoso e hidroetanólico de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP. 2005.....	45
11	Efeito de quatro concentrações de extratos metanólico (a) e hidrometanólico (b) de melão-de-são-caetano no crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> , em meio líquido de BD. Ilha Solteira, SP. 2005.....	46
12	Percentagens de inibições do crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio líquido de BD e concentrações ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) dos extratos metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP. 2005.....	46
13	Percentagem de inibição da germinação de esporos de <i>Colletotrichum musae</i> e concentrações (%) do extrato aquoso de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP. 2005.....	50
14	Percentagens de inibições da germinação de esporos de <i>Colletotrichum musae</i> e concentrações ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) dos extratos metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP, 2005.....	51
15	Desenvolvimento de lesões de antracnose aos 11 dias após a instalação do experimento, em bananas tratadas com extratos aquoso, hidroetanólico, metanólico e hidrometanólico e tiofanato metílico, uma hora antes da inoculação de <i>Colletotrichum musae</i> . Ilha Solteira, SP. 2005.....	55
16	Diâmetro médio de lesões (cm) de <i>Colletotrichum musae</i> desenvolvidas em bananas, pulverizadas 24 e 48 horas após e antes da inoculação do fungo com extratos aquoso, hidroetanólico, metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico. Ilha Solteira, SP. 2005.....	56

17	Desenvolvimento de lesões de antracnose, aos 11 dias após a instalação do experimento, em bananas tratadas com extrato metanólico de melão-de-são-caetano 24 e 48 horas após e antes da inoculação de <i>Colletotrichum musae</i> . Ilha Solteira, SP. 2005.....	57
18	Desenvolvimento de lesões de antracnose, aos 11 dias após a instalação do experimento, em bananas tratadas com tiofanato metílico uma, 24, 48 e 72 horas antes da inoculação de <i>Colletotrichum musae</i> . Ilha Solteira, SP. 2005.....	57
19	Diâmetros médios de lesões (cm) de <i>Colletotrichum musae</i> desenvolvidas em bananas após 11 dias da pulverização dos extratos aquoso, hidroetanólico, metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico. Os períodos de aplicação dos produtos foram realizados uma, 24, 48 e 72 horas antes da inoculação do fungo. Ilha Solteira, SP. 2005.....	58
20	Desenvolvimento de lesões de antracnose, aos 11 dias após a instalação do experimento, em bananas tratadas com extratos aquoso (a) e metanólico (b) de melão-de-são-caetano uma, 24, 48 e 72 h antes da inoculação de <i>Colletotrichum musae</i> . Ilha Solteira, SP. 2005.....	59
21	Desenvolvimento de lesões de antracnose, aos 11 dias após a instalação do experimento, em bananas tratadas com extratos hidroetanólico (a) e hidrometanólico (b) de melão-de-são-caetano uma, 24, 48 e 72 h antes da inoculação de <i>Colletotrichum musae</i> . Ilha Solteira, SP. 2005.....	59

LISTA DE TABELAS

	Página
1 Efeito de extratos de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico na percentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio sólido de BDA <i>in vitro</i> . Ilha Solteira, SP. 2005.....	36
2 Equações de regressão linear (ERL) e concentração efetiva (EC ₅₀) para inibição de 50% do crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio sólido de BDA. Ilha Solteira, SP. 2005.....	39
3 Efeito de extratos de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico na percentagem de inibição do crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio líquido de BD. Ilha Solteira, SP. 2005.....	42
4 Equações de regressão linear (ERL) e concentração efetiva (EC ₅₀) para inibição de 50% do crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio líquido de BD. Ilha Solteira, SP. 2005.....	43
5 Efeito de extratos de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico na percentagem de inibição da germinação de esporos de <i>Colletotrichum musae in vitro</i> . Ilha Solteira, SP. 2005.....	48
6 Equações de regressão linear (ERL) e dose letal (DL ₅₀) para inibição de 50% da germinação de esporos de <i>Colletotrichum musae</i> . Ilha Solteira, SP. 2005.....	49
7 Análise de variância do diâmetro da lesão de antracnose (<i>Colletotrichum musae</i>) em bananas utilizando cinco produtos (P) aplicados de forma (E) preventiva (uma, 24, 48 e 72 horas) e curativa (24 e 48 horas). Ilha Solteira, SP. 2005.....	53

- 8 Diâmetro médio de lesões (cm) de *Colletotrichum musae* desenvolvidas aos 11 dias após a instalação do experimento em bananas, as quais foram tratadas com extratos aquoso, hidroetanólico, metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico. Frutos mantidos em condições de laboratório. Ilha Solteira, SP. 2005..... 54
- 9 Efeito de extratos aquoso (EAq), alcoólico (EAl), metanólico (EMt) e hidrometanólico (EHd) de melão-de-são-caetano e de tiofanato metílico (TMt), aplicados em bananas sobre a presença de frutificação visível de *Colletotrichum musae* (Cm) aos 7 e 11 dias após a instalação do experimento (DAI) e no número de frutos maduros aos 5 e 7 DAI. Ilha Solteira, SP. 2005..... 61

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1. Antracnose.....	17
2.1.1. Sintomas.....	17
2.1.2. Etiologia.....	18
2.1.3. Manejo da antracnose.....	20
2.2. Uso de extratos vegetais no controle de doenças de plantas.....	21
2.3. Melão-de-são-caetano – <i>Momordica charantia</i>	24
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	27
3.1. Coleta do material vegetal.....	27
3.2. Procedimentos para o preparo dos extratos.....	28
3.3. Isolado de <i>Colletotrichum musae</i>	29
3.4. Ensaios <i>in vitro</i>	30
3.4.1. Tratamentos utilizados.....	30
3.4.2. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre o crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio de cultura sólido.....	30
3.4.3. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre o crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> em meio de cultura líquido.....	31
3.4.4. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre a germinação de esporos de <i>Colletotrichum musae</i>	32
3.5. Ensaio <i>in vivo</i> : Efeito da aplicação de extratos de melão-de-são-caetano na inibição do desenvolvimento de <i>Colletotrichum musae</i> em frutos de banana, sob condições de laboratório.....	32

3.6. Análise estatística.....	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
4.1. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre o crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> , incorporados em meio de cultura sólido.....	35
4.2. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre o crescimento micelial de <i>Colletotrichum musae</i> , incorporados em meio de cultura líquido.....	42
4.3. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre a germinação de esporos de <i>Colletotrichum musae</i>	48
4.4. Efeito da aplicação de extratos de melão-de-são-caetano na inibição do desenvolvimento de <i>Colletotrichum musae</i> em bananas, sob condições de laboratório...	53
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
6. CONCLUSÕES.....	64
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

1. INTRODUÇÃO

A banana é o fruto mais popular no Brasil, sendo consumido nas formas fresca, cozida, frita ou processada industrialmente como doces ou passas (CORDEIRO & MATOS, 2003, p.323-390). A banana detém o quarto lugar em termos de importância alimentar, ficando atrás apenas do arroz, trigo e leite. Colhem-se em todo o mundo, cerca de 69 milhões de toneladas de banana por ano, sendo que a Ásia e as Américas respondem por quase 90% desse total (VIEIRA, 2004, p.221).

O Brasil é o segundo maior produtor mundial de banana (*Musa* spp.) e a cultura se desenvolve em praticamente todos os estados. Calcula-se que a área ocupada com a cultura no país alcance 513 mil hectares, representando 9,4% do total mundial. O Estado de São Paulo é o maior produtor de banana, seguindo-se dos estados da Bahia e do Pará. O Brasil exporta principalmente para os países do Mercosul, em especial para a Argentina e o Uruguai. Apesar do volume de produção, as exportações brasileiras representam apenas 3,4% do total nacional (VIEIRA, 2004, p.221).

A bananicultura brasileira, de maneira geral, é conduzida sob baixo nível tecnológico, resultando em plantios onde os problemas fitossanitários, especialmente doenças, ocorrem em elevada intensidade, contribuindo para a baixa produtividade e qualidade dos frutos (CORDEIRO & MATOS, 2003, p.323-390).

As doenças de pós-colheita em frutos de banana são de grande importância, principalmente para os frutos destinados à exportação, destacando-se a antracnose causada por *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) Arx. (BASTOS & ALBUQUERQUE, 2004, p. 255-257). Esta doença manifesta-se por lesões nos frutos que diminuem a vida de prateleira e a atração do consumidor. Isto afeta a qualidade e a quantidade de banana disponível para exportação e consumo local (ANTHONY et al., 2004, p.91-97).

No controle da antracnose são utilizados atualmente tratamentos químicos e práticas culturais, visando reduzir a quantidade de inóculo no campo. Em pós-colheita, as medidas de controle são constituídas principalmente pelo uso de fungicidas. Em decorrência de problemas de fitotoxicidade, efeitos residuais e eventuais quebra de resistência dos fungicidas pelo patógeno, novos métodos alternativos de controle têm se buscado como, o uso de extratos de plantas e óleos vegetais (BASTOS & ALBUQUERQUE, 2004, p.255-257). Isto visa a diminuição do uso de fungicidas convencionais (ANTHONY et al., 2004, p.91-97).

Os resultados alcançados com o uso de extratos de plantas têm-se mostrado promissores na prática de controle de fitopatogênicos em diversas culturas. Exemplos destes resultados são o uso de extratos de *Solanum torvum* L. no controle de *C. musae* em frutos de banana (THANGAVELU et al., 2004, p.664-668), de óleo de soja no controle da antracnose em manga (JUNQUEIRA et al., 2004, p.222-225) e de extratos de *Lafoensia pacari* St. Hil. no controle de *Corynespora cassiicola* (Berk & Curt) Wei em plantas de acerola (NARUZAWA et al., 2005, p.92).

Celoto (2003, 44p.) ao avaliar extratos de 24 plantas medicinais no controle de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. em mamoeiro, constatou que o extrato aquoso de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) proporcionou 61% e 94% de inibição do crescimento micelial e da germinação de esporos, respectivamente. Segundo o mesmo autor, a inibição deve-se a presença de substâncias antifúngicas na planta. Bacchi et

al. (2004, p.223) relataram em ensaio *in vitro* a atividade antifúngica de extrato aquoso de melão-de-são-caetano sobre *Cercospora calendulae*.

Extrato de melão-de-são-caetano, da família Cucurbitaceae, é utilizado na medicina popular no tratamento de coceiras, sarnas e impinge, e na medicina tradicional vem sendo estudado para o tratamento da diabetes (BASCH et al., 2003, p.356-359) e da AIDS (LEE-HUANG et al., 1995, p.151-156).

Considerando a diversidade de substâncias que existem na planta de melão-de-são-caetano e a possibilidade de se encontrar novas substâncias antifúngicas, realizou-se este trabalho com o objetivo de se determinar a atividade antifúngica *in vitro* de extratos de melão-de-são-caetano sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de *Colletotrichum musae* e avaliar ainda o efeito dos extratos de melão-de-são-caetano no desenvolvimento da antracnose, em frutos de banana variedade Missouri, sob condições de laboratório.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Antracnose

2.1.1. Sintomas

A antracnose é a doença mais importante que ocorre nos frutos da bananeira, podendo ter infecções tanto na pré quanto na pós-colheita. As lesões de antracnose originam-se de infecções ocorridas em duas formas distintas: em frutos verdes, permanecendo latentes até os seus amadurecimentos; e em pós-colheita, decorrente de ferimentos na superfície dos frutos, resultando lesões não latentes (CORDEIRO & MATOS, 2003, p.323-390).

A antracnose se caracteriza pelo desenvolvimento de lesões escuras e deprimidas na superfície do fruto (Figura 1). Em condições de umidade relativa elevada podem-se observar massas de coloração rósea sobre as lesões, correspondentes às estruturas reprodutivas do patógeno chamadas de acérvulos. Com o progresso da doença, as lesões aumentam de tamanho, podendo-se coalescer, resultando com isso frutos de má aparência. A antracnose geralmente mantém-se restrita à casca do fruto, mas os reflexos sobre a polpa ocorrem em estádios avançados da doença, sob condições altamente favoráveis ao seu desenvolvimento (CORDEIRO & MATOS, 2003, p.323-390).



Figura 1. Sintomas da antracnose, causada por *Colletotrichum musae*, em bananas.

2.1.2. Etiologia

A antracnose é causada por *Colletotrichum musae* (Berk. & Curtis) von Arx. (Teleomorfo: *Glomerella musarum* Petch). Esta espécie apresenta grande variabilidade quanto à forma e tamanho dos esporos, características culturais, reação a produtos químicos e patogenicidade. Conídios, quando depositados sobre frutos verdes no campo, em presença de um filme de água, germinam e formam apressório dentro de quatro horas. A penetração ocorre 24 a 72h após, mas a infecção permanecerá quiescente até o início da maturação dos frutos, ocasião em que os sintomas começam a se desenvolver (CORDEIRO & KIMATI, 1997, p.112-136).

O ótimo de temperatura para crescimento e esporulação de *C. musae* situa-se entre 27°C e 30°C, enquanto temperaturas inferiores a 15°C inibem ou reduzem consideravelmente o crescimento do patógeno (GOOS & TSCHIRSCH, 1962, p.353-367). Uma característica importante dos conídios é a resistência a baixa umidade e altas temperaturas, sendo capazes de sobreviver por até 60 dias nessas condições (BADGER, 1965, p.688-692). Outra característica do agente causal da antracnose, de importância epidemiológica, é a produção, em abundância, de conídios em folhas velhas, durante época seca (MEREDITH, 1962, p.335-347).

Os conídios, liberados dos acérvulos por salpicos de chuva, são disseminados pelo vento e depositados sobre frutos verdes no campo. Em presença de água livre, os conídios germinam, formam apressório e penetram os tecidos do fruto verde, originando infecções latentes, as quais resultarão em lesões típicas da antracnose no amadurecimento dos frutos (CHAKRAVARTY, 1957, p.337-345). Esporos de *C. musae* podem germinar na superfície de frutos imaturos e maduros (PRUSKY, 1996, p.413-434).

Muirhead (1981, p.155-167) concluiu que em bananas não maduras, o apressório é a estrutura quiescente de *C. musae*. Swinburne (1976, p.74-90) relatou que a formação de apressório durante a infecção de *C. musae* em banana é regulado e estimulado pela presença de ácido antranílico. Este ácido está presente na casca da banana na forma de gotículas e é rapidamente transformado pelos conídios para uma forma ativa de ácido 2,3 dihidroxibenzóico, o qual tem propriedades de formar quelatos e reduzir o nível de ferro ligado aos esporos. Segundo Harper et al. (1980, p. 169-174), o ferro está associado a um sítio inibidor da germinação de esporos de *C. musae*. Muitos agentes quelantes de ferro já foram citados na literatura como estimulantes da germinação de esporos e formação de apressório. Esta pode ser uma explicação para o estímulo da germinação de conídios de *C. musae*, na presença de sideróforos produzidos por bactérias na superfície de frutos de banana (McCRAKEN & SWINBURNE, 1980, p. 212-213).

Fatores específicos de origem do patógeno ou de origem exógena (do hospedeiro) podem inibir ou estimular a germinação de esporos em infecções quiescentes, aliás, a auto-inibição de conídios é um fenômeno em várias formas de *C. gloeosporioides* (PRUSKY, 1996, p.413-434). Por outro lado, barreiras físicas também podem afetar a formação de hifas de penetração em infecções latentes (WADE & CRUICKSHANK, 1992, p.90-106).

Prusk (1996, p.413-434) relatou que a ativação de infecções quiescentes não deve ser resultante apenas da redução de barreiras físicas pré-formadas ou induzíveis, mas também da

produção de sinais específicos do hospedeiro, tais como o etileno, que ativariam genes, iniciando a germinação de apressórios quiescentes e estimulando a indução de fatores de patogenicidade do fungo. No entanto, o autor relatou que o etileno seria responsável pela formação do apressório quiescente apenas para frutos não climatéricos como a laranja e não para frutos climatéricos como o abacate. A banana também é exemplo de fruto climatérico, ou seja, amadurece após a sua colheita.

2.1.3. Manejo da antracnose

Acredita-se que os taninos presentes na casca verde e ausentes na casca maturada, possam estar envolvidos na quiescência do patógeno em frutos verdes (CORDEIRO & KIMATI, 1997, p.112-136). Segundo Cordeiro & Matos (2003, p.323-390), o agente casual da antracnose dos frutos da bananeira é um patógeno que embora possa penetrar mecanicamente também o faz via ferimentos durante a pós-colheita. Portanto, todas as práticas culturais capazes de reduzir ferimentos na superfície dos frutos reduzirão também a incidência da doença.

As práticas em pós-colheita de despencamento, lavagem e embalagem devem envolver o manuseio extremamente cuidadoso dos frutos e também medidas rigorosas de assepsia dos mesmos. Associado a esses cuidados, o último passo é o controle químico que pode ser feito por imersão ou por atomização dos frutos. Os princípios ativos utilizados em âmbito mundial são: thiabendazol, benomyl e tiofanato metílico. Nem todos os produtos utilizados são registrados na Secretaria de Defesa Sanitária Vegetal do Ministério da Agricultura e do Abastecimento, para uso no tratamento de frutos (CORDEIRO & MATOS, 2004, p.128-134). Apenas os fungicidas Tiabendazole e Imazalil são registrados para o uso no controle da antracnose em banana (WINFIT, 2004) no Brasil.

2.2. Uso de extratos vegetais no controle de doenças de plantas

O Brasil é o país de maior biodiversidade genética vegetal do mundo, com mais de 55.000 espécies catalogadas. Entretanto, pouco se sabe sobre a composição química dessas plantas, além de que grande parte dos compostos secundários já isolados de plantas medicinais, ainda necessita de estudos quanto às suas atividades biológicas (STANGARLIN et al., 1999, p.16-21).

As plantas são importantes fontes de substâncias biologicamente ativas, ou seja, substâncias que apresentam alguma atividade sobre o metabolismo de um organismo vivo. Do ponto de vista fitossanitário, os produtos vegetais podem apresentar três atividades principais: antimicrobianos (atividade direta contra os fitopatógenos inibe o crescimento micelial, a germinação de esporos ou a multiplicação de bactérias ou outros fitopatógenos); indutores de resistência (contém moléculas bioativas capazes de induzir ou ativar os mecanismos de defesa da planta) e também os chamados 'bioestimulantes' do crescimento de plantas (TALAMINI & STADNIK, 2004, p.45-62).

As substâncias bioativas sintetizadas pelos vegetais geralmente são provenientes do metabolismo secundário. Dentre essas substâncias há os fenóis, os terpenos e os peptídeos (POSER & MENTZ, 2004, p.75-89).

Uma espécie de planta largamente utilizada e estudada na terapêutica humana e que apresenta resultados promissores como produto fitossanitário natural é o alho (*Allium sativum* L.). A atividade antimicrobiana de extratos de alho foi comprovada contra a bactéria do gênero *Salmonella* e sobre os fungos *Aspergillus niger* Thiegh. e *Penicillium cyclopium* Westling em testes *in vivo* (BENKEBLIA, 2004, 263-268). O extrato de alho foi eficiente no controle de *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.) Scc. e *Penicillium italicum* Wehmer na pós-colheita de frutos de laranja cultivar Valência (OBAGWU & KORSTEN, 2003, p.221-225).

O potencial do extrato aquoso do eucalipto (*Eucalyptus citriodora* Hook.) foi testado no controle alternativo de antracnose em pepino. O extrato proporcionou 75% de inibição da germinação de esporos com a concentração de 25% e controle total da formação de apressórios com a concentração de 15%. Verificou-se também, o potencial do extrato de eucalipto para induzir resistência local em pepino contra *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *cucurbitae* (Berk et Mont) Menten et Kimati (BONALDO et al., 2004, p.128-134).

Naruzawa et al. (2005, p.92) avaliaram o efeito de extratos de plantas do cerrado sobre *Corynespora cassiicola* da acerola. Os autores observaram que os extratos aquoso e alcoólico de *Lafoensia pacari* St. Hil. proporcionaram 91% de inibição do crescimento micelial e controle total da germinação de esporos do fungo.

Ao avaliar 50 extratos de plantas, Thangavelu et al. (2004, p.664-668) relataram que o extrato de *Solanum torvum* inibiu completamente o crescimento micelial de *C. musae* e ainda reduziu efetivamente tanto a incidência da antracnose em frutos de banana quanto a maturação dos frutos por 16-20 dias em relação à testemunha.

O nim (*Azadirachta indica* A. de Jussieu) é muito utilizado para fins medicinais e na agricultura como produto fitossanitário natural. Seu potencial para a agricultura deve-se a sua ação inseticida, fungicida, bactericida (MARTINEZ, 2002, 142p.) e nematicida (PANDEY et al., 2003, p.123-127). Produtos à base de nim, como AzatinTM, Superneem 4.5TM e NeemixTM, são registrados em outros países como inseticidas, fungicidas e acaricidas (TALAMINI & STADNIK, 2004, p.45-62).

O óleo derivado de sementes de jojoba controlou o oídio em cucurbitáceas e ornamentais tanto em campo quanto em casa de vegetação. Considerado um fungicida de contato, o óleo de jojoba também foi usado com sucesso em melões, hortaliças e algodão para o controle da mosca branca (KUEPPER & SULIVAN, 2001). Óleo de *Piper aduncum* L. proporcionou 100% de inibição da germinação e crescimento micelial de *C. musae*. Este óleo

mostrou-se ainda eficaz no controle da antracnose em frutos de banana (BASTOS & ALBUQUERQUE, 2004, p.255-257). Óleos essenciais de *Cymbopogon nardus* (L.) e *Ocimum basilicum* L. apresentaram atividade antifúngica contra *C. musae* (ANTHONY et al., 2004, p.91-97). Já o óleo de soja aumentou o tempo de prateleira da manga Palmer e foi eficaz no controle da antracnose (JUNQUEIRA et al., 2004, p.222-225). O uso de óleos essenciais de *Cinnamomum zeylnicum* (L.) e *Syzygium romaticum* (L.) Merr et L.M.Perry apresentou atividade antifúngica contra *C. musae*, *Lasioidiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl. e *Fusarium proliferatum* (T. Matsushima) Nirenberg, todos isolados de frutos de banananeira (RANASINGHE et al., 2002, p.208-211).

O extrato da planta *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai é outro produto fitossanitário natural que vem sendo largamente utilizado por agricultores da Europa e dos Estados Unidos no controle de algumas doenças de plantas (TALAMINI & STADNIK, 2004, p.45-62). Fofana et al. (2002, p.121-132) verificaram redução na infecção por *Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht) Pollacci em plantas de pepino tratadas com extratos de *R. sachalinensis*. Em outros países, o extrato de *R. sachalinensis* está registrado com o nome comercial de Milsana® para o controle de oídio em ornamentais e míldio e mofo-cinzeno em diversas culturas protegidas em casa de vegetação (Environmental Protection Agency, 2005).

No Brasil, existem alguns extratos comercializados como bioestimulantes. O produto comercial Ecolife®, conhecido entre os produtores orgânicos e de ornamentais, é empregado no controle de fitopatógenos. O produto é um extrato da biomassa cítrica e induz a planta a sintetizar suas próprias fitoalexinas, as quais utilizam para reduzir os danos causados por bactérias e fungos (TALAMINI & STADNIK, 2004, p.45-62).

Há relatos do emprego de substâncias extraídas de plantas silvestres com ação antifúngica, reportando ainda inúmeras vantagens quando comparadas ao emprego de substâncias sintéticas. Os fungicidas naturais, obtidos de recursos renováveis, são rapidamente

degradáveis, ou seja, não persistem no ambiente. O desenvolvimento da resistência dos patógenos a essas substâncias, compostas da associação de vários princípios ativos, é um processo lento. Esses fungicidas são de fácil acesso e obtenção por agricultores, não deixam resíduos em alimentos e apresentam baixo custo de produção. Portanto, aconselha-se a produção de alimentos em sistema orgânico, que preconiza a utilização de produtos fitossanitários naturais, quando da implantação de programas de agricultura sustentável e de desenvolvimento local (ROEL, 2001, p.43-50).

2.3. Melão-de-são-caetano – *Momordica charantia*

O melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.), da família Cucurbitaceae, é originário do leste indiano ou do sul da China (Figura 2). A planta é monóica, raramente hermafrodita e com flores amarelas solitárias nas axilas das folhas (ROBINSON & DECKER-WALTERS, 1997, 226p.). No Brasil, a espécie selvagem é uma planta daninha bastante freqüente em pomares, hortas, cafezais, sobre cercas, alambrados e terrenos baldios (LORENZI, 2000, 608p.).



Figura 2. Folhas, flores e frutos de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*).

A planta apresenta ciclo anual, é herbácea, é trepadeira, muito ramificada, caules pubescentes com comprimento de 2-3 m e sistema de reprodução por sementes. As folhas apresentam 5-7 lóbos ovalado-oblongos, pecioladas, face superior levemente pubescente e a inferior mais densamente pilosa ao longo das nervuras. As flores são axilares, solitárias e de coloração amarela (LORENZI, 2000, 608p.). Os frutos são amarelos ou laranjas, apresentam dois a 12 cm de largura, ovóide, quando abertos expõem as sementes cobertas por um arilo vermelho, mucilagenoso, adocicado e comestível por pássaros e crianças (MATOS, 2002, 267p.).

A denominação melão-de-são-caetano foi atribuída pelos escravos africanos que se estabeleceram na região de minas auríferas e o plantaram ao redor de uma capela em Mariana, MG. O padroeiro da capela era São Caetano e os frutos parecidos com melão, daí originou-se o nome melão-de-são-caetano (BARBIERI, 2003). Outras denominações para a planta em português são erva-de-são-caetano, erva-de-lavadeira, fruto de cobra, fruto de negro, erva-de-são-vicente e melãozinho. As denominações da mesma em inglês são “Bitter Melon”, “Ampalaya”, “Balsam pear”, “Bitter gourd”, “Foo gwa”, “Karela” e “La-kwa” (LORENZI, 2000, 608p.).

No extrato de uma ou mais partes da planta (sementes, folhas, haste, raízes ou frutos) de melão-de-são-caetano foram encontrados substâncias bioativas como alcalóides, flavanóides, saponinas, glicosídeos, açúcares redutores, resinas, constituintes fenólicos, óleo fixado e ácidos livres (TORRES et al, 2002, p.42-44).

A planta de melão-de-são-caetano contém propriedades medicinais como anti-helmíntica, anti-reumática e anti-carbuncolosa e ainda é indicada para cólicas menstruais, hemorróidas, tumores, furúnculos, morfêia, eczema, cravos e diabetes (LORENZI, 2000, 608p.; BASCH et al., 2003, p.356-359; VIRD et al., 2003, p.107-111). Também há relatos do efeito anti-ulcerogênico (GURBUZ et al., 2000, p.77-82) e da utilização da mesma na terapia

alternativa para controle da diabetes por possuir propriedades hiperglicêmicas. Reportou-se também a atividade antiviral das propriedades da planta contra o vírus HIV em ratos, sendo atribuída à proteína MP30. Esta proteína também apresentou atividade antineoplásica *in vitro* (BASCH et al., 2003, p.356-359).

Na área agronômica, extratos de frutos de melão-de-são-caetano apresentaram efeito inseticida para a lagarta *Spodoptera litura* Fabr. E para o pulgão *Aphis craccivora* Koch (AMNART & CHADIN, 1983, p.220-221), efeito larvicida para o mosquito *Culex* (SRIVASTAVA & NERALIYA, 1997, p.111-115) e efeito nematicida para *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood (DIAS et al., 2000, p.203-210). Atividade antibacteriana foi detectada por Anwar et al. (2000, p.29-33), atividade antifúngica sobre *Colletotrichum gloeosporioides* de mamoeiro (CELOTO, et al., 2004, p.122) e sobre *Cercospora calendulae* Sacc. da calêndula (BACCHI et al., 2004, p.223).

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia, da Faculdade de Engenharia – FE, Campus de Ilha Solteira, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, em Ilha Solteira/SP, no período de setembro de 2004 a junho de 2005.

3.1. Coleta do material vegetal

As partes aéreas de plantas de melão-de-são-caetano foram coletadas na região de Ilha Solteira/SP, em setembro de 2004 e em fevereiro de 2005, no período da manhã. O material foi acondicionado em saco plástico e levado ao laboratório, excluindo-se as flores e frutos. Posteriormente, procedeu-se a lavagem do mesmo em água corrente, seguido de desinfestação em solução de hipoclorito a 10% durante 20 minutos, com a finalidade de eliminar microrganismos presentes na superfície das plantas. Em seguida, o material foi lavado em água destilada, para retirar o excesso da solução de hipoclorito e deixado sobre papel absorvente por 48 horas, visando eliminar o excesso de umidade. Após este período, o mesmo foi acondicionado em sacos de papel e colocado em estufa com circulação forçada de ar por 96 horas a 45°C. Para cada quilograma de material vegetal fresco foi obtido 64g de material seco, que foi submetido a moagem em moinho de facas, sendo o material acondicionado em

saco plástico e mantido em condições de laboratório até o momento da obtenção dos extratos aquoso, hidroetanólico, metanólico e hidrometanólico. O emprego de material vegetal seco deve-se à sua estabilidade química, porém cuidados especiais devem ser tomados na coleta e manuseio das espécies vegetais para preparo de extratos.

3.2. Procedimentos para o preparo dos extratos

Foram utilizados 20g do material vegetal, preparado no item 3.1., e 80g de solvente para a obtenção dos extratos. No preparo do extrato aquoso, o material vegetal ficou em contato com água destilada fervente por duas horas em ambiente de laboratório. Após este período, a mistura foi filtrada em funil, contendo uma porção de algodão como elemento filtrante, conectado a uma bomba de vácuo. O filtrado obtido foi acondicionado em vidro âmbar e mantido em refrigerador a 4 °C, até o momento da utilização.

Para a obtenção do extrato hidroetanólico, misturou-se o material vegetal a uma solução de etanol a 70%, submetendo-se esta mistura a turbo extração por oito minutos, em dois tempos de quatro minutos, com intervalo de três minutos. Após, realizou-se a filtragem como utilizado para o extrato aquoso. Com a finalidade de se evitar a interferência da ação do álcool presente no extrato hidroetanólico, este foi evaporado, pela manutenção do mesmo em banho-maria à 45°C, até restar um líquido viscoso, ao qual adicionou-se água destilada até a obtenção do volume inicial do extrato. Com isso, o extrato foi acondicionado de modo semelhante ao utilizado para o extrato aquoso.

No preparo dos extratos metanólico (100%) e hidrometanólico (70%), o material vegetal seco foi submetido ao processo de extração por maceração, ficando em contato com o solvente por uma semana. Após este período procedeu-se uma filtragem em papel pregueado

e uma concentração em rotaevaporador até a secura, fornecendo extratos secos, os quais foram retirados do balão, acondicionados em frascos e mantidos em refrigerador a 4°C.

3.3. Isolado de *Colletotrichum musae*

A partir de frutos de banana com sintomas de antracnose, causada por *C. musae*, foi realizado o isolamento direto do fungo para o meio de cultura de Batata-Dextrose-Ágar (BDA: 200g de batata, 20g de dextrose, 20g de ágar e 1000mL de água destilada). Para isso, sob microscópio estereoscópio transferiu-se parte da esporulação do fungo, com auxílio de estilete, para placas de Petri contendo meio de cultura BDA. As placas foram mantidas em estufa incubadora a 25°C durante cinco dias. Após obtenção de colônia pura do fungo, o mesmo foi preservado no método de Castellani (1939, 225p.) em refrigerador a 15°C. Foi realizado o teste de patogenicidade do fitopatógeno.

Para a realização das avaliações, discos de BDA + *C. musae* preservados na solução salina foram transferidos para placas de Petri contendo BDA, as quais foram mantidas em estufa incubadora a 25°C, durante cinco dias. Discos de 0,5cm de diâmetro dos bordos da colônia ou suspensão de esporos foram utilizados nos ensaios *in vitro* e *in vivo*.

A suspensão de esporos foi preparada acrescentando-se 10mL de água destilada na superfície da colônia e com auxílio de um pincel procurou-se liberar os esporos. A suspensão foi filtrada em gaze dupla e, com o auxílio do hemacitômetro, calibrou-se a suspensão na concentração de 4×10^3 esporos.mL⁻¹.

3.4. Ensaios *in vitro*

Todos os ensaios *in vitro* foram realizados em duplicatas e foi utilizada a média dos resultados obtidos na análise estatística.

3.4.1. Tratamentos utilizados

Utilizaram-se os extratos aquoso, hidroetanólico, metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano e o fungicida tiofanato metílico. Para os extratos aquoso e hidroetanólico, por encontrarem-se na forma líquida, foram utilizadas as concentrações de 5, 15, 25 e 50% do extrato, o qual foi incorporado ao meio de cultivo. Os extratos metanólico e hidrometanólico, por encontrarem-se na forma sólida, foram primeiramente dissolvidos em água destilada nas concentrações de 1, 10, 100 e 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e, em seguida incorporadas ao meio de cultivo. Todos os extratos foram adicionados ao meio de cultivo antes da realização da esterilização, a qual foi feita em autoclave a 120°C, 1atm durante 20 minutos. O tiofanato metílico foi utilizado nas mesmas concentrações dos extratos sólidos, entretanto o fungicida foi incorporado ao meio de cultivo após a autoclavagem. O tratamento testemunha consistiu somente do meio de cultivo BDA (cultura sólida), BD (cultura líquida) ou água destilada esterilizada (germinação de esporos).

3.4.2. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio de cultura sólido

Foram utilizados os tratamentos mencionados no item 3.4.1. Após a solidificação dos meios, contendo todos os tratamentos, cada placa recebeu um disco de micélio de *C. musae*, sendo em seguida vedadas com filme plástico e mantidas a 25°C sob fotoperíodo de 12 horas de luz seguida de 12 horas de escuro.

As avaliações foram realizadas por meio de medições do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas) iniciadas após 48 horas de incubação, perdurando seis dias, ou seja, até o momento em que as colônias fúngicas do tratamento testemunha atingiram toda superfície do meio de cultura.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído de 21 tratamentos, com quatro repetições, sendo cada parcela representada por uma placa de Petri.

3.4.3. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio de cultura líquido

Foram utilizados frascos de vidro de 347mL contendo 100mL do meio de cultivo, contemplando todos os tratamentos. Cada frasco de vidro recebeu dois discos de BDA contendo micélio de *C. musae*, como foi apresentado no item 3.3. Os frascos foram vedados com filme plástico e mantidos a temperatura ambiente $28\pm 3^{\circ}\text{C}$, sob fotoperíodo de 12 horas de luz seguida de 12 horas de escuro e movimentação constante em agitador orbital (40rpm).

Após seis dias, o conteúdo de cada frasco foi filtrado em papel de filtro Whatman nº 1, com o auxílio de bomba a vácuo, sendo em seguida realizada a secagem do micélio retido no papel de filtro, em estufa a 60°C , até peso constante, para a determinação do peso da massa micelial produzida.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído de 21 tratamentos, com quatro repetições, sendo cada parcela representada por um frasco de vidro.

3.4.4. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre a germinação de esporos de *Colletotrichum musae*

Para verificar o efeito dos extratos na germinação de esporos de *C. musae*, utilizou-se a suspensão de esporos preparada de acordo com o item 3.3. Foram misturados 50µL da suspensão de esporos e 50µL das soluções de extratos e tiofanato metílico, nas concentrações descritas no item 3.4.1. Como testemunha foi empregado a água destilada, contendo 2×10^3 esporos.mL⁻¹. De cada tratamento assim preparado, alíquotas de 100µL foram transferidas para células de uma placa usada em teste de ELISA e mantidas a 25°C sob fotoperíodo de 12 horas de luz seguida de 12 horas de escuro durante 48 horas. Ao término deste período, colocou-se uma gota de lactofenol em cada célula da placa ELISA para interromper a germinação dos esporos. Sob microscópio ótico, realizou-se a contagem de 100 esporos em cada célula, separando os esporos germinados e não germinados. Como esporo germinado considerou-se o esporo que apresentou tubo germinativo igual ou maior que a sua largura.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, constituído de 21 tratamentos, com quatro repetições, sendo cada parcela constituída pelo conteúdo de duas células da placa de ELISA.

3.5. Ensaio *in vivo*: Efeito da aplicação de extratos de melão-de-são-caetano na inibição do desenvolvimento de *Colletotrichum musae* em frutos de banana, sob condições de laboratório

O ensaio *in vivo* foi realizado em duplicata e utilizada a média dos resultados obtidos na análise estatística. Os frutos de banana da variedade Missouri foram coletados no ponto de colheita na Fazenda de Ensino e Pesquisa (FEP) da Faculdade de Engenharia – Campus de Ilha Solteira, da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, no

município de Selvíria/MS. Os tratamentos foram constituídos dos extratos aquoso e hidrometanólico não diluídos, dos extratos metanólico e hidrometanólico e do tiofanato metílico na concentração de $1000\mu\text{g.mL}^{-1}$ e da testemunha. Os tratamentos foram pulverizados nos frutos com um pulverizador manual.

Foram utilizados dez frutos por tratamento, os quais foram pulverizados em dois momentos: antes da inoculação (uma, 24, 48 e 72 horas) e após a inoculação (24 e 48 horas). Como inóculo os frutos receberam um disco contendo micélio de *C. musae* como mencionado no item 3.3., o qual foi depositado sobre um ferimento superficial provocado. Após a inoculação, os frutos foram acondicionados em câmara úmida durante 48 horas e a seguir, mantidos em condições de laboratório ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$) em prateleiras e dispostos inteiramente casualizados.

Os parâmetros avaliados foram: a) medições do diâmetro das lesões de antracnose (média de duas medidas diametralmente opostas); b) presença de esporulação visível de *C. musae* sobre as lesões por meio da observação da lesão sob microscópio estereoscópio; e c) número de frutos maduros (prontos para o consumo). As avaliações iniciaram após 48 horas e perduraram até a maturação dos frutos, 11 dias após a instalação do ensaio.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 5×6 , com cinco repetições, sendo cada parcela representada por dois frutos.

3.6. Análise estatística

A partir dos dados obtidos foram determinadas as percentagens de inibição do crescimento micelial (PIC), de germinação de esporos (PIG) e de desenvolvimento da antracnose (PDA) por meio das fórmulas apresentadas a seguir, para cada tratamento, em relação ao tratamento testemunha.

$$\text{PIC} = \frac{\text{diâmetro da testemunha} - \text{diâmetro do tratamento}}{\text{diâmetro da testemunha}} \times 100$$

$$\text{PIG} = \frac{\text{n}^\circ \text{ esporos germ. da testemunha} - \text{n}^\circ \text{ esporos germ. do tratamento}}{\text{n}^\circ \text{ esporos germ. da testemunha}} \times 100$$

$$\text{PDA} = \frac{\text{diâmetro da lesão da testemunha} - \text{diâmetro da lesão do tratamento}}{\text{diâmetro da lesão da testemunha}} \times 100$$

A concentração efetiva para inibição do crescimento micelial em 50% (EC₅₀) e a dose letal para inibir 50% da germinação dos esporos (DL₅₀) foram estimadas por meio de regressão linear. Para os dados quantitativos (concentrações) ajustou-se a equação de regressão, e aos dados qualitativos (diferentes extratos e fungicida) foram aplicados o teste de Tukey 5 % de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1985, 466p.)

No ensaio *in vivo*, os tratamentos foram arranjados em esquema fatorial, com cinco tratamentos e seis períodos de aplicação dos extratos (24 e 48 horas após a inoculação e uma, 24, 48 e 72 horas antes da inoculação) e a testemunha adicional.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*, incorporados em meio de cultura sólido

O resultados referentes à inibição do crescimento micelial (ICM) de *C. musae* pelos quatro extratos de melão-de-são-caetano incorporados em meio de cultura sólido, estão apresentados na Tabela 1. Para efeito comparativo entre os extratos de melão-de-são-caetano e o tiofanato metílico, na análise estatística foi utilizada a concentração de cada tratamento que apresentou maior efeito inibitório sobre o crescimento micelial do fitopatógeno, sendo comparados pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O fungicida tiofanato metílico inibiu totalmente o crescimento micelial de *C. musae* ao ser incorporado na concentração de $1\mu\text{g.mL}^{-1}$ (Tabela 1), diferindo estatisticamente de todos os extratos, classificando-o como um produto químico de alta ação fungitóxica sobre o crescimento micelial do fitopatógeno segundo a classificação dos níveis de toxicidade proposta por Edgington et al. (1971, p.42-44). Segundo Cordeiro (2005), o tiofanato metílico tem sido utilizado no controle da antracnose e da podridão-da-coroa em banana.

Tabela 1. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico na percentagem de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio sólido de BDA *in vitro*. Ilha Solteira, SP. 2005.

Tratamento	% Inibição do Crescimento Micelial
Extrato Aquoso – 50%	71 b*
Extrato Hidroetanólico – 50%	65 c
Extrato Metanólico – 1000µg.mL ⁻¹	54 d
Extrato Hidrometanólico – 1000µg.mL ⁻¹	36 e
Tiofanato Metílico – 1µg.mL ⁻¹	100 a
CV (%)	1,13

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

Entre os extratos de melão-de-são-caetano utilizados, o extrato aquoso proporcionou 71% de ICM de *C. musae* ao ser incorporado na concentração 50%, diferindo estatisticamente dos demais extratos (Tabela 1). Celoto et al. (2004, p.122) constataram a atividade antifúngica de extrato aquoso de melão-de-são-caetano, que inibiu mais de 50% o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*, quando incorporaram 20% do extrato ao meio de BDA. Bacchi et al. (2004, p.233) verificaram a atividade antifúngica do extrato aquoso de melão-de-são-caetano, ao inibir 35% o crescimento micelial de *Cercospora calendulae* a 10000µg.mL⁻¹.

O extrato hidroetanólico, na concentração de 50%, inibiu 65% o crescimento micelial de *C. musae* diferindo estatisticamente dos demais extratos (Tabela 1). Celoto (2003, 44p.) ao avaliar o efeito *in vitro* de extrato alcoólico de melão-de-são-caetano para *C. gloeosporioides* de mamoeiro, utilizando 20% de concentração, observou inibição de 47% do crescimento micelial.

A percentagem de inibição do crescimento micelial de *C. musae* para o extrato metanólico foi de 54% e este valor diferiu estatisticamente do extrato hidrometanólico que foi

de 36%. Estas percentagens foram menores e diferentes estatisticamente em relação as dos extratos aquoso e hidroetanólico (Tabela 1). É necessário cuidado ao se estabelecer comparações entre os extratos aquoso e hidroetanólico, cujas concentrações foram utilizadas em percentagem (%) e os extratos metanólico e hidrometanólico que foram usados em $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Considerando-se o efeito de doses crescentes de extratos de melão-de-são-caetano sobre o crescimento fúngico de *C. musae*, verificou-se que com o aumento das concentrações ocorreu uma redução do crescimento micelial (Figuras 3 e 4). Segundo Thangavelu et al. (2004, p.664-668), o grau de inibição *in vitro* está diretamente correlacionado com a concentração de extratos de plantas em meio de BDA. Ao testar os extratos de *S. torvum* em diferentes concentrações contra *C. musae*, os autores observaram inibição micelial completa quando utilizaram as maiores concentrações de extratos (25% e 50%). Bastos & Albuquerque (2004, p.255-257) observaram que houve 100% de ICM de *C. musae* na maior concentração de óleo essencial de *Piper aduncum* utilizada ($150\mu\text{g.mL}^{-1}$). Para Sarma et al. (1999, p.336-339), dos 15 extratos testados em diferentes concentrações contra *Rhizoctonia solani* Kühn, cinco destes extratos proporcionaram mais de 90% de ICM do fungo na concentração de 50%.

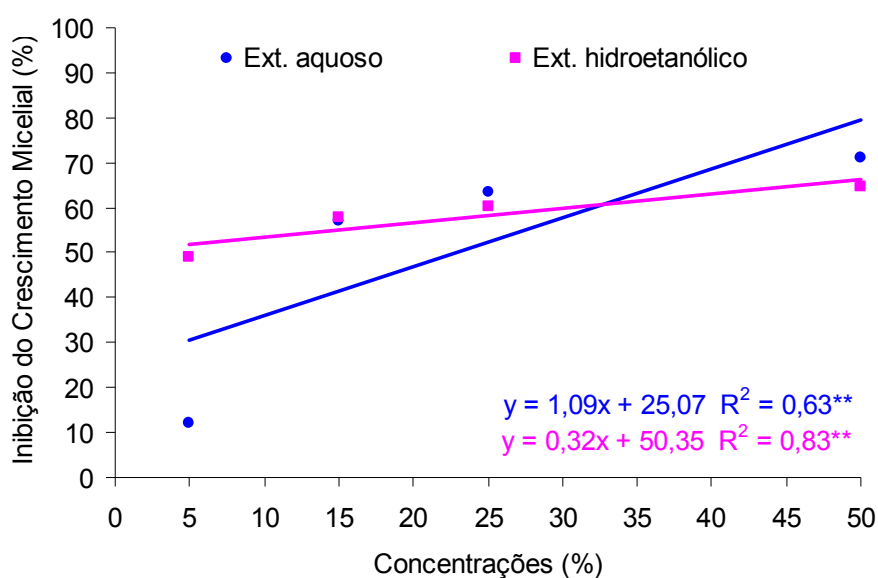


Figura 3. Percentagens de inibições do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio sólido de BDA e concentrações (%) dos extratos aquoso e hidroetanólico de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP. 2005.

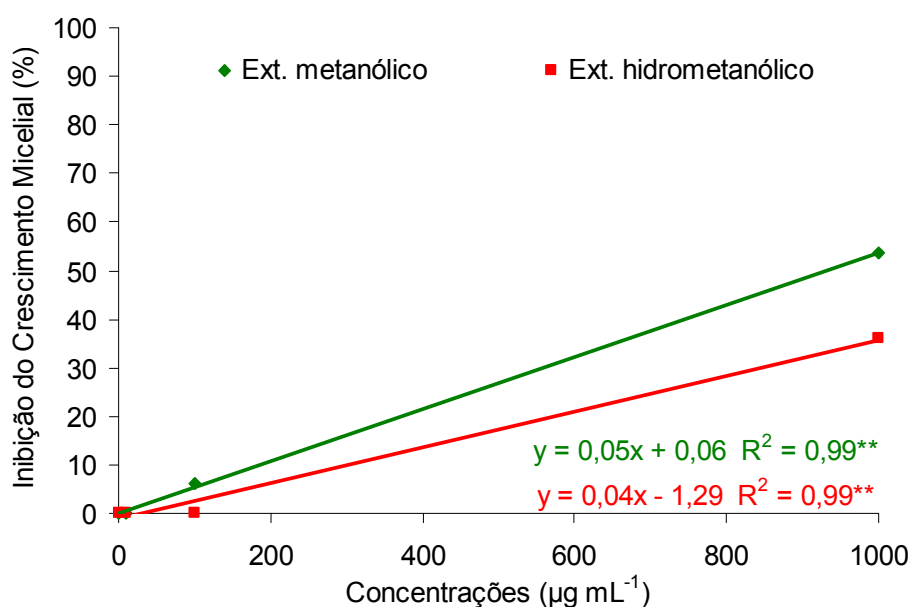


Figura 4. Percentagens de inibições do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio sólido de BDA e concentrações ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) dos extratos metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP. 2005.

O ajuste da equação de regressão para o tiofanato metílico não foi significativo (Tabela 2), por proporcionando inibição completa do crescimento micelial nas quatro concentrações utilizadas (Figura 5). Enquanto que para o extrato aquoso de melão-de-são-caetano, o ajuste da equação de regressão foi significativo, demonstrando o efeito linear das concentrações sobre a ICM de *C. musae* (Figuras 3 e 6a). Esses resultados indicam a presença de substâncias antifúngicas no extrato aquoso, que apresentou valor de EC_{50} para *C. musae* estimado em 23% (Tabela 2).

Tabela 2. Equações de regressão linear (ERL) e concentração efetiva (EC_{50}) para inibição de 50% do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio sólido de BDA. Ilha Solteira, SP. 2005.

Tratamento	ERL	R ²	EC ₅₀
Extrato Aquoso	$y = 1,09x + 25,07$	0,63**	23 ¹
Extrato Hidroetanólico	$y = 0,32x + 50,35$	0,83**	<5 ¹
Extrato Metanólico	$y = 0,05x + 0,06$	0,99**	999 ²
Extrato Hidrometanólico	$y = 0,04x - 1,29$	0,99**	>1000 ²
Tiofanato Metílico	ns*	-	-

¹Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em %; ²Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em $\mu\text{g mL}^{-1}$; *Não significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade.

O extrato hidroetanólico teve efeito semelhante ao extrato aquoso sobre o crescimento micelial de *C. musae*, com efeito linear das concentrações sobre a ICM do fitopatógeno (Figuras 3 e 6b). O valor de EC_{50} apresentou-se abaixo da menor concentração testada (5%), sugerindo que este extrato apresente substâncias antifúngicas (Tabela 2).

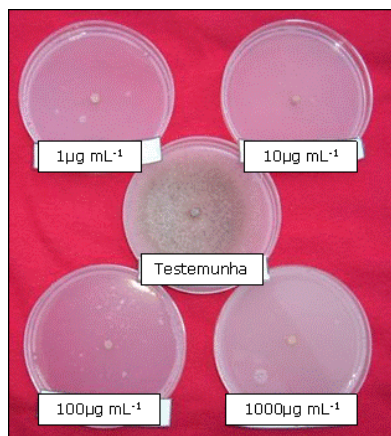


Figura 5. Efeito de quatro concentrações do fungicida tiofanato metílico no crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio sólido de BDA. Ilha Solteira, SP. 2005.

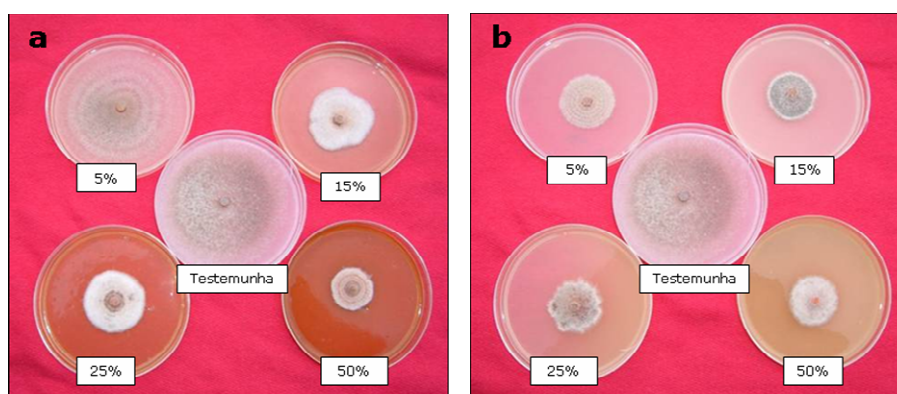


Figura 6. Efeito de quatro concentrações de extratos aquoso (a) e hidroetanólico (b) de melão-de-são-caetano no crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio sólido de BDA. Ilha Solteira, SP. 2005.

O efeito do extrato metanólico *in vitro* para o fitopatógeno foi significativo para o ajuste da equação de regressão, apresentando efeito linear, ou seja, com o aumento da concentração do produto foi verificada maior ICM (Figuras 4 e 7a). O extrato metanólico apresentou valor da EC_{50} estimado em $999\mu\text{g.mL}^{-1}$, valor próximo à maior concentração testada ($1000\mu\text{g.mL}^{-1}$). Segundo Edgington et al (1971, p.42-44) compostos com $EC_{50} > 50\mu\text{g.mL}^{-1}$ podem ser considerados como pouco fungitóxico.

O ajuste da equação de regressão para o extrato hidrometanólico de melão-de-são-caetano foi significativo para as diferentes concentrações de extrato hidrometanólico, com efeito linear para o fitopatógeno (Figuras 4 e 7b). O valor de EC_{50} foi estabelecido acima da maior concentração testada ($1000\mu\text{g.mL}^{-1}$) (Tabela 2), classificando este extrato como um produto de pouca ação fungitóxica para o crescimento micelial de *C. musae* (EDGINGTON et al, 1971, p.42-44).

Não foram encontrados na literatura trabalhos que avaliaram o efeito *in vitro* de extratos metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano sobre fitopatógenos.

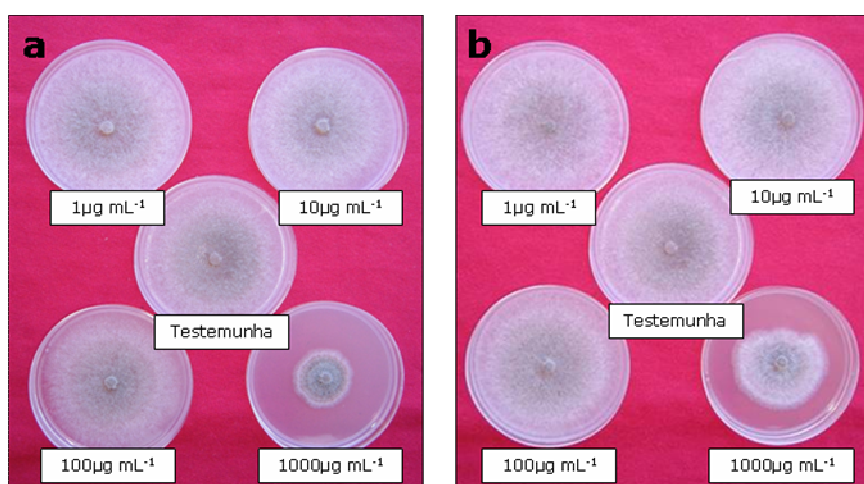


Figura 7. Efeito de quatro concentrações de extratos metanólico (a) e hidrometanólico (b) de melão-de-são-caetano no crescimento micelial de *Colletotrichum musae*, em meio sólido de BDA. Ilha Solteira, SP. 2005.

4.2. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae*, incorporados em meio de cultura líquido

Os resultados de inibição do crescimento micelial de *C. musae* em meio de cultivo líquido de batata-dextrose e os extratos de melão-de-são-caetano, estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico na percentagem de inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio líquido de BD. Ilha Solteira, SP. 2005.

Tratamentos	% Inibição do Crescimento Micelial
Extrato Aquoso – 50%	86 b*
Extrato Hidroetanólico – 50%	81 c
Extrato Metanólico – 1000µg.mL ⁻¹	55 d
Extrato Hidrometanólico – 1000µg.mL ⁻¹	44 e
Tiofanato Metílico – 1µg.mL ⁻¹	97 a
CV (%)	2,69

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O fungicida tiofanato metílico, na concentração de 1µg.mL⁻¹, apresentou maior ação fungitóxica, com ICM de *C. musae* de 97%, diferindo estatisticamente dos extratos de melão-de-são-caetano (Tabela 3). Os extratos aquoso e hidroetanólico de melão-de-são-caetano, similar ao ensaio em meio de cultivo sólido, também proporcionaram alta capacidade de ação inibitória no crescimento micelial do fitopatógeno estudado, proporcionando 86% e 81%, respectivamente, de ICM do fungo, diferindo estatisticamente dos demais extratos avaliados. Os extratos metanólico e hidrometanólico também proporcionaram ação fungistática sobre *C.*

musae em meio de cultivo líquido. As percentagens de ICM obtidas foram 55% e 44%, respectivamente. Estes valores diferiram significativamente entre si e dos demais tratamentos.

O ajuste da equação de regressão para o tiofanato metílico não foi significativo (Tabela 4), por proporcionando inibição completa do crescimento micelial nas quatro concentrações utilizadas (Figura 8). Enquanto que para o extrato aquoso, o ajuste de regressão linear foi significativo (Figuras 9a e 10), indicando que com o aumento da concentração ocorre maior redução do crescimento do micélio de *C. musae*. Ainda pelo ajuste da regressão linear foi estimado o valor de EC₅₀ de *C. musae* em 13% para o extrato aquoso (Tabela 4), o que indica a presença de substâncias antifúngicas em sua composição.

Tabela 4. Equações de regressão linear (ERL) e concentração efetiva (EC₅₀) para inibição de 50% do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio líquido de BD. Ilha Solteira, SP. 2005.

Tratamento	ERL	R ²	EC ₅₀
Extrato Aquoso	$y = 1,23x + 33,75$	0,71 ^{**}	13 ¹
Extrato Hidroetanólico	$y = 0,43x + 61,30$	0,90 ^{**}	<5 ¹
Extrato Metanólico	$y = 0,05x + 3,39$	0,95 ^{**}	932 ²
Extrato Hidrometanólico	$y = 0,04x + 0,17$	0,99 ^{**}	>1000 ²
Tiofanato Metílico	ns [*]	-	-

¹Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em %; ²Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em µg.mL⁻¹; *Não significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade.

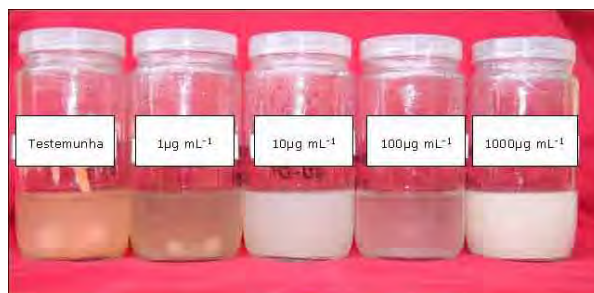


Figura 8. Efeito de quatro concentrações de tiofanato metílico no crescimento micelial de *Colletotrichum musae*, em meio líquido de BD. Ilha Solteira, SP. 2005.

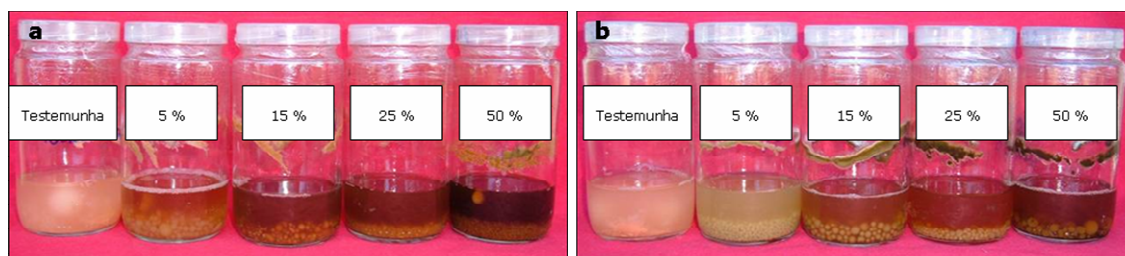


Figura 9. Efeito de quatro concentrações de extratos aquoso (a) e hidroetanólico (b) de melão-de-são-caetano no crescimento micelial de *Colletotrichum musae*, em meio líquido de BD. Ilha Solteira, SP. 2005.

O extrato hidroetanólico apresentou ajuste da equação de regressão significativo para as diferentes concentrações testadas (Figuras 9b e 10). O valor de EC_{50} foi inferior à menor concentração testada (5%), indicando a presença de substâncias antifúngicas em sua composição (Tabela 4).

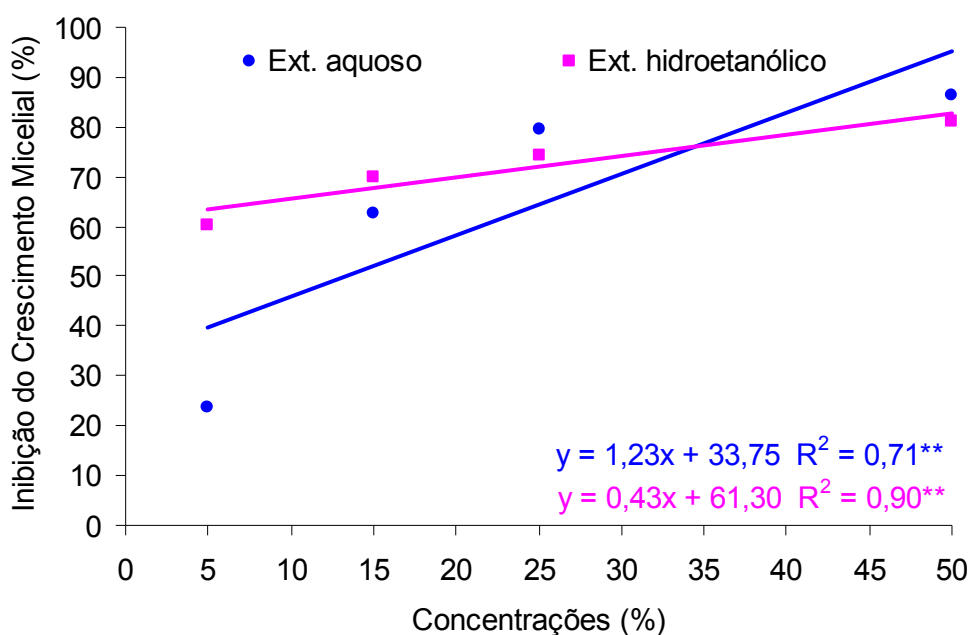


Figura 10. Percentagens de inibições do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio líquido de BD e concentrações (%) dos extratos aquoso e hidroetanólico de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP. 2005.

O efeito dos extratos metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano *in vitro* sobre *C. musae* foi significativo para o ajuste da equação de regressão linear (Figuras 11 e 12). O valor de EC_{50} de *C. musae* para o extrato metanólico foi estimado em $932\mu\text{g.mL}^{-1}$ e para o extrato metanólico o valor de EC_{50} foi superior a maior concentração testada ($1000\mu\text{g.mL}^{-1}$) (Tabela 4). Estes valores permitem classificar os extratos metanólico e hidrometanólico como produtos de pouca ação fungitóxica sobre o crescimento micelial de *C. musae* segundo a classificação dos níveis tóxicos para fungos proposta por Edgington et al. (1971, p.42-44).

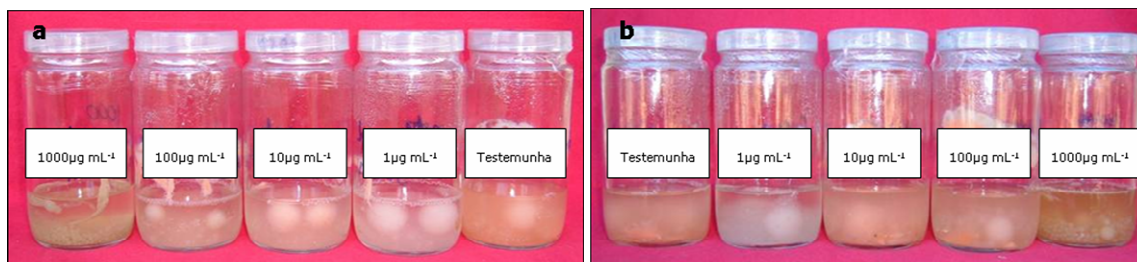


Figura 11. Efeito de quatro concentrações de extratos metanólico (a) e hidrometanólico (b) de melão-de-são-caetano no crescimento micelial de *Colletotrichum musae*, em meio líquido de BD. Ilha Solteira, SP. 2005.

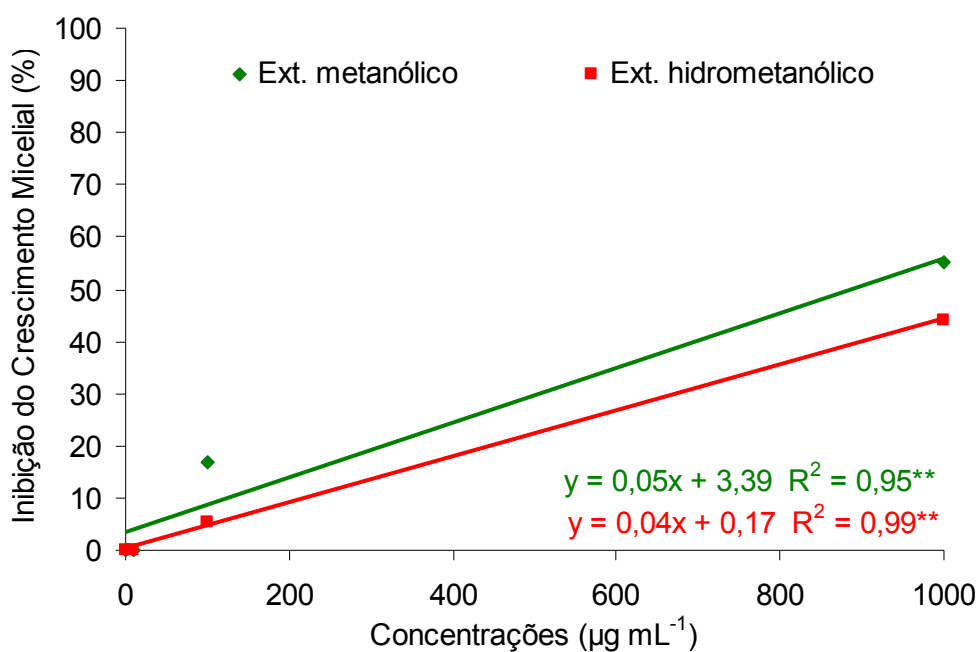


Figura 12. Percentagens de inibições do crescimento micelial de *Colletotrichum musae* em meio líquido de BD e concentrações (µg.mL⁻¹) dos extratos metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP. 2005.

Comparando-se a inibição do crescimento micelial nos meios sólidos e líquidos constata-se que, numericamente, todos os tratamentos do meio líquido (Tabela 3) apresentaram maior ação fungistática sobre *C. musae* que no meio sólido (Tabela 1). Um exemplo é o extrato alcoólico, que em meio sólido inibiu 65% o crescimento do micélio de *C. musae*, enquanto que em meio líquido, essa inibição atingiu 81%. Os resultados obtidos no presente trabalho concordam com Missio (2004, 82p.), que ao avaliar o efeito de indutores de resistência no crescimento micelial de *C. gloeosporioides* e *Corynespora cassiicola*, relatou ação fungistática mais acentuada do produto quando em meio líquido, possivelmente pelo maior contato do produto com o micélio, devido à movimentação constante do meio de cultivo.

4.3. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano sobre a germinação de esporos de *Colletotrichum musae*

Os percentuais de inibição da germinação de esporos (IGE) de *C. musae* pelos extratos de melão-de-são-caetano obtidos estão apresentados na Tabela 5. O extrato aquoso na concentração de 50% e o fungicida tiofanato metílico na concentração de $1\mu\text{g mL}^{-1}$ inibiram completamente a germinação de esporos, diferindo significativamente dos demais extratos avaliados. A ação fungistática do extrato aquoso de melão-de-são-caetano obtida pelo presente trabalho também foi verificada por Celoto (2003, 44p), que relatou o efeito deste extrato sobre a germinação de esporos de *C. gloeosporioides* com inibição de 94% na concentração de 20%.

Tabela 5. Efeito de extratos de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico na percentagem de inibição da germinação de esporos de *Colletotrichum musae* *in vitro*. Ilha Solteira, SP. 2005.

Tratamentos	% Inibição da Germinação de Esporos
Extrato Aquoso – 50%	100 a *
Extrato Alcoólico – 50%	0 d
Extrato Metanólico – $1000\mu\text{g.mL}^{-1}$	57 b
Extrato Hidrometanólico – $1000\mu\text{g.mL}^{-1}$	42 c
Tiofanato Metílico – $1\mu\text{g.mL}^{-1}$	100 a
CV (%)	2,34

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de probabilidade.

O fungicida tiofanato metílico, semelhante aos ensaios de inibição do crescimento micelial, inibiu completamente a germinação de esporos de *C. musae* para todas as concentrações avaliadas, apresentando alta ação fungitóxica. O ajuste da equação de regressão não foi significativo (Tabela 6).

O extrato aquoso de melão-de-são-caetano proporcionou 100% de IGE de *C. musae* na maior concentração testada (50%), com regressão linear significativa (Figura 13). Esses resultados confirmam a presença de substâncias antifúngicas no extrato aquoso, que apresentou valor de EC_{50} sobre *C. musae* estimado em 22% (Tabela 6).

Tabela 6. Equações de regressão linear (ERL) e dose letal (DL_{50}) para inibição de 50% da germinação de esporos de *Colletotrichum musae*. Ilha Solteira, SP. 2005.

Tratamento	ERL	R^2	DL_{50}
Extrato Aquoso	$y = 2,13x + 2,17$	0,90 ^{**}	22 ¹
Extrato Alcoólico	ns [*]	-	-
Extrato Metanólico	$y = 0,03x + 26,99$	0,69 ^{**}	767 ²
Extrato Hidrometanólico	$y = 0,03x + 17,25$	0,53 ^{**}	>1000 ²
Tiofanato Metílico	ns [*]	-	-

¹Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em %; ²Valores estimados a partir da equação de regressão linear, em $\mu\text{g.mL}^{-1}$; *Não significativo a 5% de probabilidade; **Significativo a 1% de probabilidade.

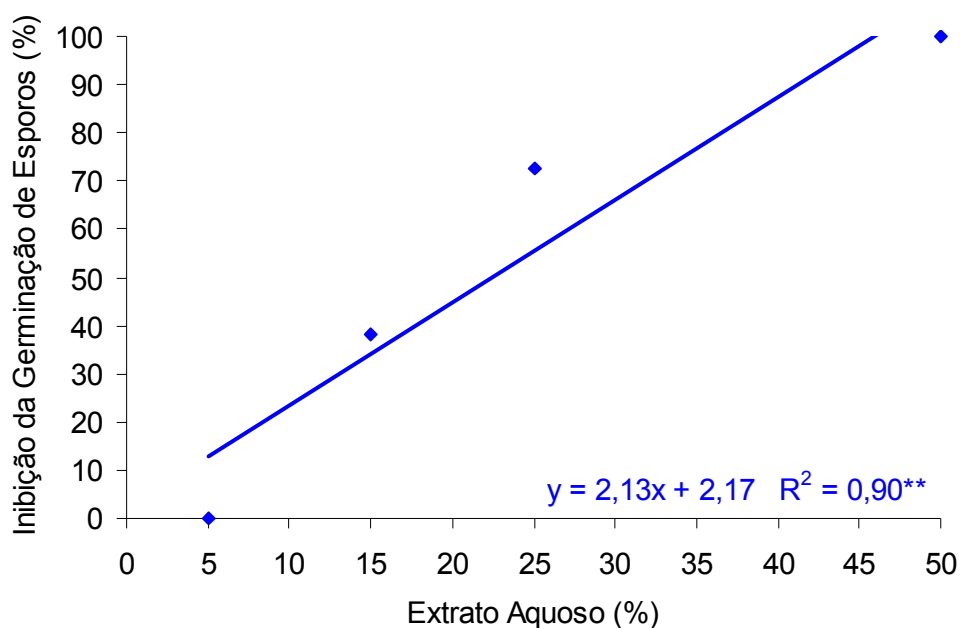


Figura 13. Percentagem de inibição da germinação de esporos de *Colletotrichum musae* e concentrações (%) do extrato aquoso de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP. 2005.

Os extratos metanólico e hidrometanólico proporcionaram IGE de *C. musae* de 57% e 42%, respectivamente, nas maiores concentrações testadas (Tabela 5). Os ajustes para as equações de regressões foram significativos para os extratos metanólico e hidrometanólico e ainda com efeitos lineares (Figura 14). O valor da DL_{50} sobre a IGE de *C. musae* para extrato metanólico foi estimado em $767\mu\text{g.mL}^{-1}$, enquanto que para o extrato hidrometanólico o valor estimado foi de $1092\mu\text{g.mL}^{-1}$, acima da maior concentração testada (Tabela 6). Os resultados dos dois extratos indicam baixa ação fungistática dos mesmos para o fitopatógeno estudado.

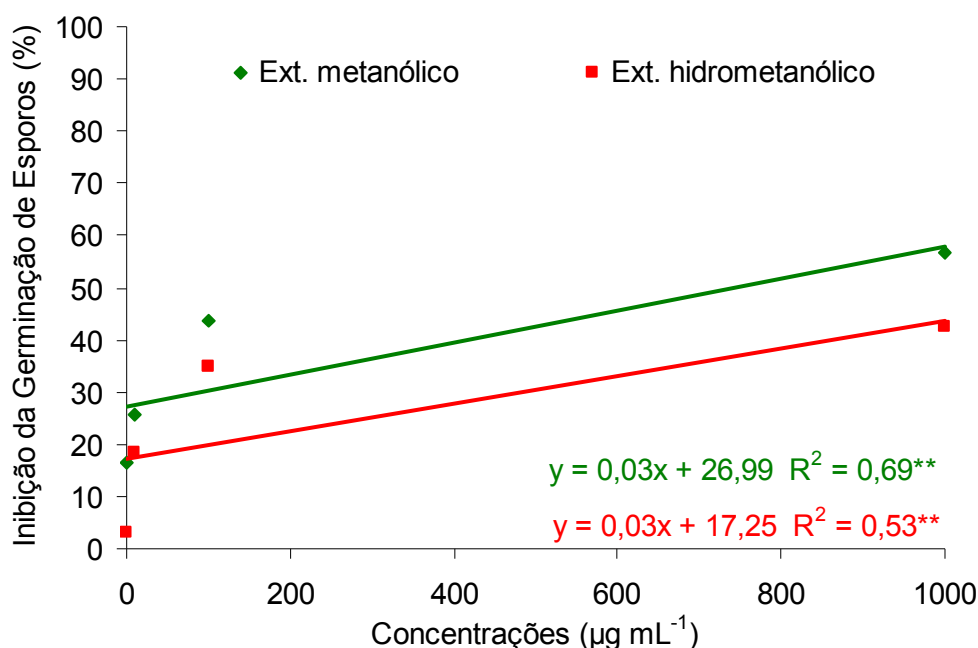


Figura 14. Percentagens de inibições da germinação de esporos de *Colletotrichum musae* e concentrações ($\mu\text{g mL}^{-1}$) dos extratos metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano. Ilha Solteira, SP, 2005.

Os resultados obtidos para o extrato hidroetanólico indicam que o mesmo apresentou menor ação fungitóxica (Tabela 5), não se constatando efeito na IGE de *C. musae* na maior concentração do extrato, diferindo estatisticamente dos demais tratamentos. Não houve significância para o ajuste da curva de regressão (Tabela 6)

A extração de determinadas substâncias do melão-de-são-caetano pode ser influenciada pelo meio extrator (solvente) utilizado. O solvente escolhido deve ser o mais seletivo possível, extraíndo apenas as substâncias desejadas ou em maior quantidade. Ao utilizar a água como solvente as substâncias preferencialmente extraídas são as saponinas e os alcalóides. Já o álcool extrai as saponinas e os taninos, enquanto que o metanol ou hidrometanol fazem obter os heterosídeos em geral (FALKENBERG et al., 2004, p.229-245).

O extrato aquoso apresentou maior inibição do crescimento micelial e da germinação de esporos de *C. musae* em relação aos demais extratos. Isto deve-se, provavelmente, a maior quantidade de substâncias extraídas pelo solvente, principalmente os alcalóides. Segundo Simões et al. (2004, 1102p.), alcalóides são compostos nitrogenados e farmacologicamente ativos, apresentando amplo espectro de atividades biológicas, tais como antibacteriana e antifúngica contra vários fitopatógenos.

4.4. Efeito da aplicação de extratos de melão-de-são-caetano na inibição do desenvolvimento de *Colletotrichum musae* em bananas, sob condições de laboratório

A análise de variância para diâmetro da lesão da antracnose em fruto de banana variedade Missouri utilizando cinco produtos aplicados em seis épocas, com os valores de quadrado médio e respectivos níveis de significância estão apresentados na Tabela 7. Os resultados referentes ao efeito de extratos de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico no diâmetro das lesões de antracnose causada por *C. musae* estão apresentadas na Tabela 8.

Tabela 7. Análise de variância do diâmetro da lesão de antracnose (*Colletotrichum musae*) em bananas utilizando cinco produtos (P) aplicados de forma (E) preventiva (uma, 24, 48 e 72 horas) e curativa (24 e 48 horas). Ilha Solteira, SP. 2005.

Fonte de Variação	Grau de Liberdade	Quadrado Médio (Ø da Lesão de Antracnose)
Produtos (P)	4	86,54**
Épocas de aplicação (E)	5	113,63**
P x E	20	32,16**
(P + E) x Testemunha	1	589,98**
Resíduo	124	-
Total	154	-

**Significativo a 1 % de probabilidade.

Tabela 8. Diâmetro médio de lesões (cm) de *Colletotrichum musae* desenvolvidas aos 11 dias após a instalação do experimento em bananas, as quais foram tratadas com extratos aquoso, hidroetanólico, metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico. Frutos mantidos em condições de laboratório. Ilha Solteira, SP. 2005.

Tratamento	Diâmetro Médio de Lesões (cm)
Testemunha	3,02 a*
Extrato Aquoso – 100%	1,40 c
Extrato Alcoólico – 100%	1,48 bc
Extrato Metanólico – 1000µg.mL ⁻¹	1,27 d
Extrato Hidrometanólico – 1000µg.mL ⁻¹	1,56 b
Tiofanato Metílico – 1000µg.mL ⁻¹	0,90 e
CV (%)	11,16

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade

Todos os tratamentos diferiram significativamente da testemunha, indicando a presença de substâncias com atividade antifúngicas nos extratos de melão-de-são-caetano (Tabela 8 e Figura 15). Silva et al. (2002) relataram que óleo de soja foi eficaz no controle da antracnose da banana em pós-colheita. Este fato foi constatado também com óleo de *Piper adundum* (BASTOS & ALBUQUERQUE, 2004, p.555-557), extrato de *Solanum torvum* (THANGAVELU et al., 2004, p.664-668) e óleos essenciais de *Cinnamomum zeylanicum* e *Syzygium aromaticum* (RANASINGHE et al., 2002, p.208-211).

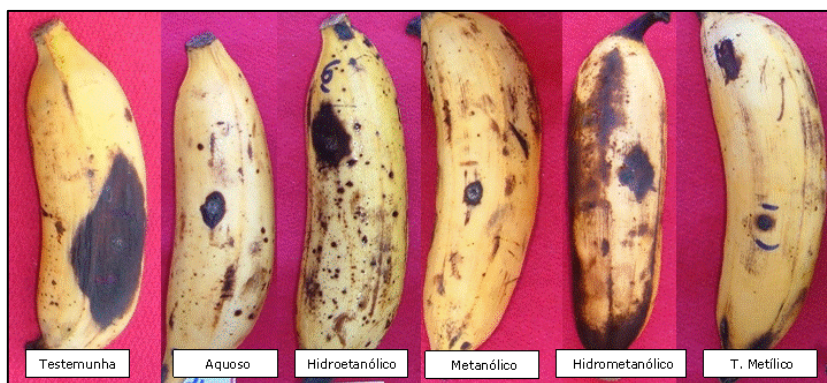


Figura 15. Desenvolvimento de lesões de antracnose aos 11 dias após a instalação do experimento, em bananas tratadas com extratos aquoso, hidroetanólico, metanólico e hidrometanólico e tiofanato metílico, uma hora antes da inoculação de *Colletotrichum musae*. Ilha Solteira, SP. 2005.

O tiofanato metílico apresentou maior controle da antracnose, proporcionando redução de 70% do diâmetro da lesão quando comparado com a testemunha, diferindo significativamente de todos os extratos de melão-de-são-caetano. O extrato metanólico também foi efetivo no controle da antracnose, proporcionando redução de 58% do diâmetro da lesão, diferindo estatisticamente dos demais extratos e do tiofanato metílico. O controle da antracnose foi observado também com extratos aquoso e hidroetanólico, com redução nos diâmetros das lesões de 54% e 51%, respectivamente. Estes percentuais não diferiram estatisticamente entre si. O extrato hidrometanólico mostrou-se o menos efetivo entre os extratos avaliados no controle da antracnose, diferindo estatisticamente dos tratamentos testados.

As épocas de aplicação dos tratamentos foram significativas para todos os tratamentos avaliados (Tabela 7) bem como o efeito para o ajuste da regressão cúbica (Figura 16). Ao avaliar os tratamentos, observa-se que os melhores períodos de aplicação dos extratos nos frutos foram uma e 24 horas antes da inoculação do fungo (Figura 17), proporcionando os

maiores efeitos na redução da antracnose e indicando ação protetora dos extratos de melão-de-são-caetano e do tiofanato metílico sobre *C. musae*.

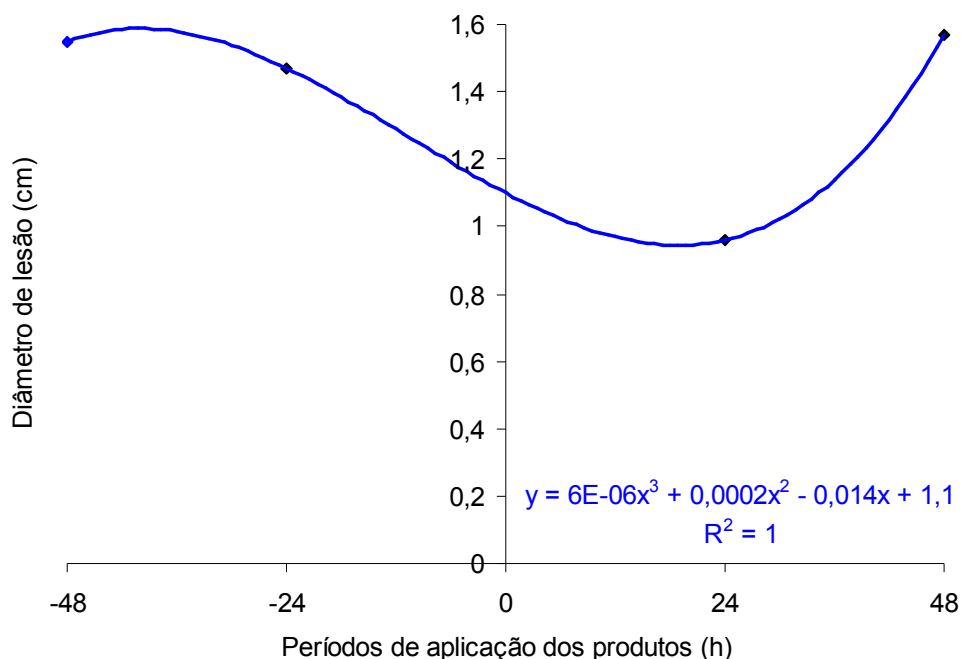


Figura 16. Diâmetro médio de lesões (cm) de *Colletotrichum musae* desenvolvidas em bananas, pulverizadas 24 e 48 horas após e antes da inoculação do fungo com extratos aquoso, hidroetanólico, metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico. Ilha Solteira, SP. 2005.

O tiofanato metílico proporcionou mais de 80% de redução no diâmetro das lesões em relação à testemunha, quando aplicado de forma preventiva (Figura 18). Houve efeito significativo para o ajuste de regressão linear deste tratamento (Figura 19). Isto evidencia sua característica protetora e erradicante. Constatou-se que o tiofanato metílico foi efetivo no controle da antracnose nos quatro períodos de aplicação, em relação aos extratos. Isto deve-se provavelmente, a menor degradação do produto na superfície do fruto.

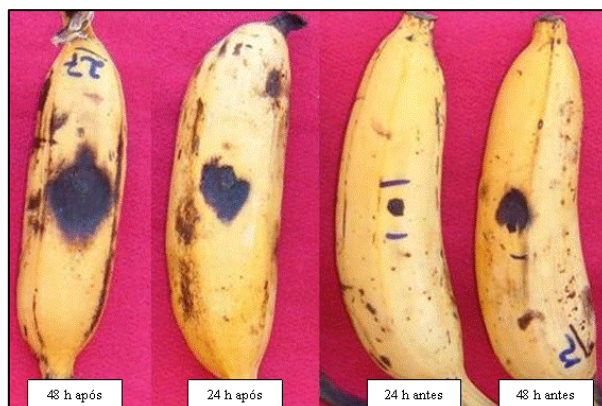


Figura 17. Desenvolvimento de lesões de antracnose, aos 11 dias após a instalação do experimento, em bananas tratadas com extrato metanólico de melão-de-são-caetano 24 e 48 horas após e antes da inoculação de *Colletotrichum musae*. Ilha Solteira, SP. 2005.

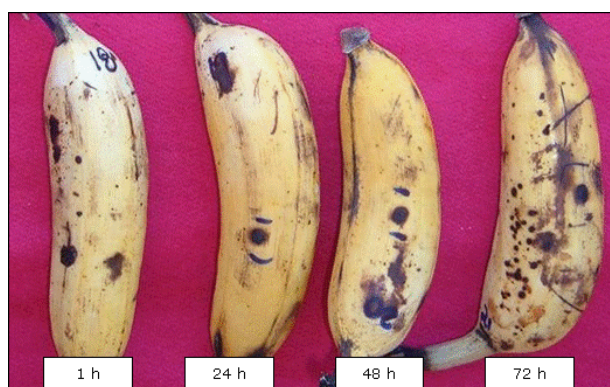


Figura 18. Desenvolvimento de lesões de antracnose, aos 11 dias após a instalação do experimento, em bananas tratadas com tiofanato metílico uma, 24, 48 e 72 horas antes da inoculação de *Colletotrichum musae*. Ilha Solteira, SP. 2005.

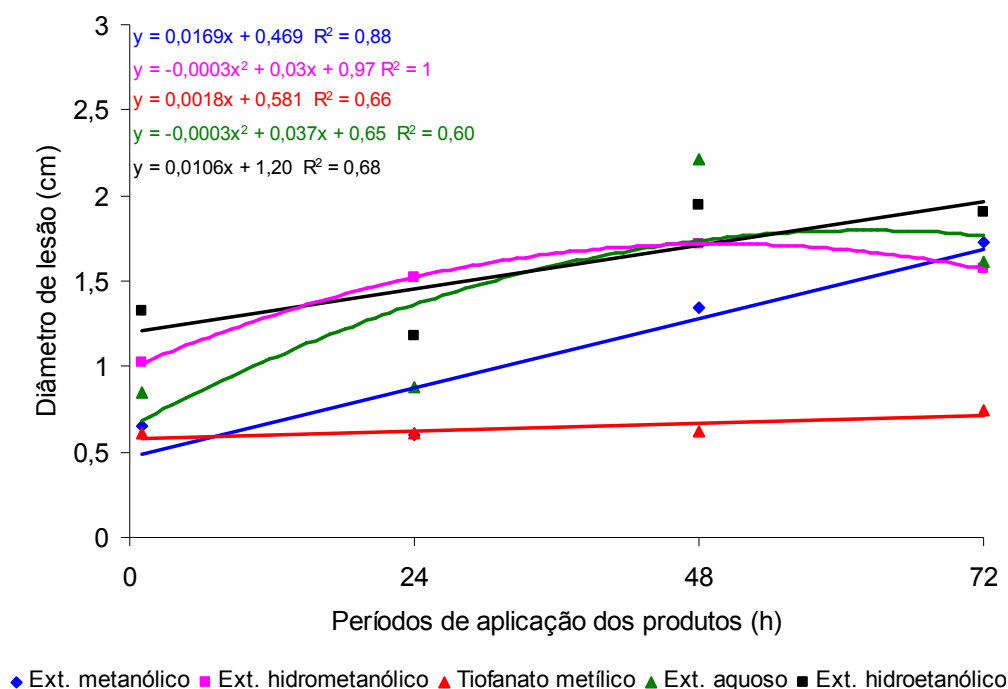


Figura 19. Diâmetros médios de lesões (cm) de *Colletotrichum musae* desenvolvidas em bananas após 11 dias da pulverização dos extratos aquoso, hidroetanólico, metanólico e hidrometanólico de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico. Os períodos de aplicação dos produtos foram realizados uma, 24, 48 e 72 horas antes da inoculação do fungo. Ilha Solteira, SP. 2005.

Os extratos metanólico e aquoso foram semelhantes ao fungicida no controle da antracnose quando aplicados uma e 24 horas antes da inoculação do fungo (Figura 19). Os percentuais de redução nos diâmetros das lesões de *C. musae* nestes tratamentos foram de 79% e 83%, respectivamente, o que caracteriza o efeito de proteção dos extratos (Figura 20).

Os resultados obtidos para os extratos hidroetanólico e hidrometanólico (Figura 19), apresentaram menor efetividade no controle da antracnose em relação aos extratos aquoso e metanólico. Os percentuais de redução nos diâmetros das lesões de *C. musae* nestes tratamentos foram 56% e 66%, respectivamente, quando aplicados uma hora antes da inoculação do fungo (Figura 21).

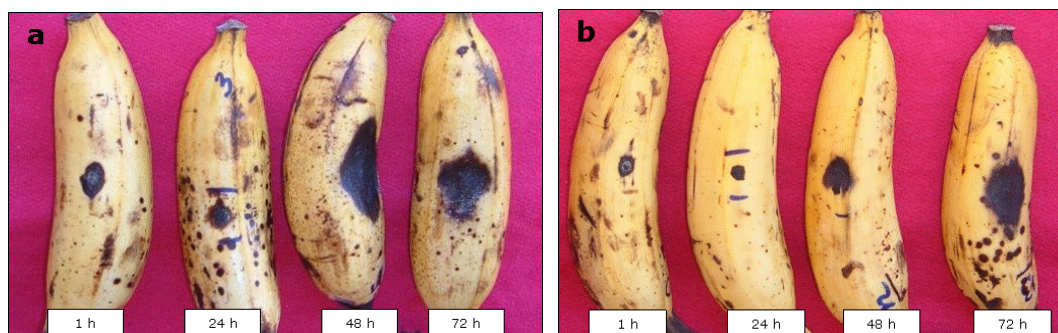


Figura 20. Desenvolvimento de lesões de antracnose, aos 11 dias após a instalação do experimento, em bananas tratadas com extratos aquoso (a) e metanólico (b) de melão-de-são-caetano uma, 24, 48 e 72 horas antes da inoculação de *Colletotrichum musae*. Ilha Solteira, SP. 2005.

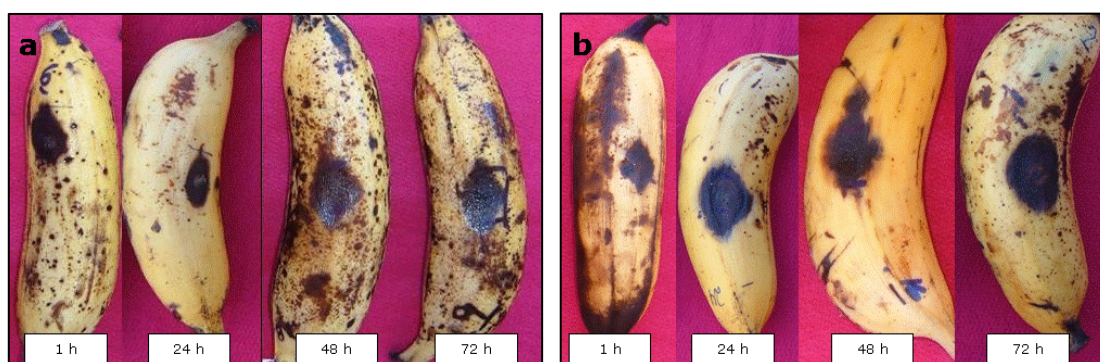


Figura 21. Desenvolvimento de lesões de antracnose, aos 11 dias após a instalação do experimento, em bananas tratadas com extratos hidroetanólico (a) e hidrometanólico (b) de melão-de-são-caetano uma, 24, 48 e 72 horas antes da inoculação de *Colletotrichum musae*. Ilha Solteira, SP. 2005.

A antracnose é caracterizada pela formação de lesões escuras e deprimidas sobre as quais, em condições de alta umidade, aparecem frutificações rosadas de *C. musae*. A presença desta frutificação foi avaliada em cada lesão dos frutos tratados. As percentagens de frutos com a presença da frutificação visível do fungo sobre as lesões de antracnose estão apresentadas na Tabela 9. Os extratos aquoso e metanólico e o fungicida tiofanato metílico, proporcionaram as menores percentagens de frutos com presença de frutificação visível. Estes extratos e o fungicida também apresentaram menores percentagens de germinação de esporos do fungo (Tabela 5).

É importante ressaltar que os tratamentos com extratos aquoso e hidroetanólico retardaram a maturação dos frutos por dois dias em relação à testemunha (Tabela 9). Silva et al. (2002) relataram que os tratamentos com extrato de sucupira e óleo vegetal retardaram a maturação dos frutos de bananeira por um período de 20 dias. Thangavelu et al. (2004, p.664-668) constataram que a vida de prateleira de bananas tratadas com extratos de *Solanum torvum* aumentaram de 16-20 dias em relação ao controle. Isto pode ser vantajoso em casos de transporte de bananas a longas distâncias.

Não foram observados sintomas de fitotoxidez para os tratamentos testados no ensaio *in vivo*, podendo-se considerar essa constatação como uma característica favorável para pesquisas posteriores. Novos trabalhos com extratos de melão-de-são-caetano poderão testar diferentes concentrações e com diferentes intervalos entre aplicação e inoculações durante a pré e pós-colheita, permitindo observar o limite de concentração que possa ser utilizado sem ser tóxico à planta e aos frutos.

Tabela 9. Efeito de extratos aquoso (EAq), alcoólico (EAl), metanólico (EMt) e hidrometanólico (EHd) de melão-de-são-caetano e de tiofanato metílico (TMt), aplicados em bananas sobre a presença de frutificação visível de *Colletotrichum musae* (Cm) aos 7 e 11 dias após a instalação do experimento (DAI) e no número de frutos maduros aos 5 e 7 DAI. Ilha Solteira, SP. 2005.

Tratamento	%Esporulação visível		%Frutos maduros	
	7 DAI	11 DAI	5 DAI	7 DAI
Testemunha	90	100	100	100
EAq + Cm 1h ¹	0	40	100	100
EAq + Cm 24h ¹	0	0	20	100
EAq + Cm 48h ¹	70	100	60	100
EAq + Cm 72h ¹	10	90	50	100
EAl + Cm 1h ¹	40	90	70	100
EAl + Cm 24h ¹	0	50	20	100
EAl + Cm 48h ¹	40	60	80	100
EAl + Cm 72h ¹	0	70	70	100
EMt + Cm 1h ¹	0	40	100	100
EMt + Cm 24h ¹	0	0	100	100
EMt + Cm 48h ¹	0	60	100	100
EMt + Cm 72h ¹	0	90	50	100
EHd + Cm 1h ¹	90	100	100	100
EHd + Cm 24h ¹	0	10	100	100
EHd + Cm 48h ¹	30	80	100	100
EHd + Cm 72h ¹	10	90	80	100
TMt + Cm 1h ¹	0	0	100	100
TMt + Cm 24h ¹	0	0	100	100
TMt + Cm 48h ¹	10	30	100	100
TMt + Cm 72h ¹	0	0	70	100
Cm + EAq 24h ²	70	90	90	100
Cm + EAq 48h ²	10	50	90	100
Cm + EAl 24h ²	30	70	20	100
Cm + EAl 48h ²	0	80	100	100
Cm + EMt 24h ²	10	70	80	100
Cm + EMt 48h ²	50	80	100	100
Cm + EHd 24h ²	30	80	100	100
Cm + EHd 48h ²	30	70	100	100
Cm + TMt 24h ²	10	60	100	100
Cm + TMt 48h ²	50	80	0	100

¹Períodos diferentes (uma, 24, 48 e 72 h) de aplicação dos extratos de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico seguido de inoculação de *C. musae*;

²Inoculação de *C. musae* seguido de dois períodos diferentes (24 e 48 h) de aplicação dos extratos de melão-de-são-caetano e tiofanato metílico.

5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O presente trabalho foi realizado considerando que o Brasil é o segundo maior produtor mundial de banana, porém as exportações brasileiras representam apenas 3,4 % do total nacional. Este fato deve-se às perdas durante a pós-colheita, principalmente por doenças, entre elas destaca-se a antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum musae*, que causa lesões nos frutos.

A antracnose diminui a vida de prateleira e a atração do consumidor pelo fruto, afetando a qualidade e quantidade de banana disponível para exportação. Ainda deve-se levar em consideração a dificuldade de controlar a doença, podendo-se ter infecções latentes e infecções tanto na pré quanto na pós-colheita e a exigência do mercado externo quanto a resíduos de agrotóxicos. O produtor dispõe apenas dos fungicidas Tiabendazole e Imazalil para uso no controle da antracnose em banana. Por esses aspectos é de fundamental importância a busca por novos produtos que apresentem eficácia no controle de *C. musae*.

Os resultados obtidos nos ensaios *in vitro* no presente trabalho, mostraram os extratos metanólico, aquoso e hidroetanólico de melão-de-são-caetano como potencialmente viáveis para o controle de *C. musae*. No ensaio *in vivo*, pode-se confirmar a ação fungitóxica dos extratos metanólico, aquoso e hidroetanólico no controle da antracnose em frutos de bananeira variedade Missouri. Sugere-se a realização de outros estudos, avaliando o efeito de novos

extratores e a determinação da(s) substância(s) antifúngica(s) presente(s) em cada extrato, assim como a toxicologia dos mesmos no ambiente e no homem.

Há a necessidade da realização de ensaios a campo, onde os extratos testados no presente trabalho sejam também aplicados em condições de pré e pós-colheita e em outras variedades de bananeira. Deve-se avaliar diferentes concentrações dos extratos e realizar análises de resíduos nos frutos.

Além da pesquisa voltada para obtenção de extratos de vegetais eficientes no controle de fitopatógenos, há a necessidade de conscientização dos produtores a utilizá-los.

6. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos pôde-se concluir que:

- ❖ Os extratos de melão-de-são-caetano apresentaram atividade antifúngica sobre *Colletotrichum musae* em todos os ensaios *in vitro*;
- ❖ Os extratos aquoso e hidroetanólico proporcionaram maiores inibições do crescimento micelial de *C. musae*;
- ❖ Os extratos de melão-de-são-caetano na forma líquida apresentaram maiores inibições do crescimento micelial de *C. musae* do que na forma sólida;
- ❖ Os extratos aquoso e metanólico proporcionaram maiores inibições da germinação de esporos de *C. musae*;
- ❖ O extrato hidrometanólico apresentou pouca ação fungistática para todos os experimentos *in vitro* e *in vivo*;
- ❖ Os extratos de melão-de-são-caetano apresentaram atividade antifúngica sobre *C. musae* em todos os ensaios *in vivo* realizados;
- ❖ Os extratos de melão-de-são-caetano apresentaram ação protetora contra a antracnose em banana;
- ❖ Os extratos metanólico e aquoso apresentaram maiores efeitos na redução da antracnose em banana;

- ❖ Os extratos aquoso e metanólico proporcionaram as menores percentagens de frutos com presença de esporulação visível nas lesões de antracnose;
- ❖ Os extratos aquoso e hidroetanólico retardaram a maturação dos frutos por dois dias em relação à testemunha;
- ❖ O fungicida tiofanato metílico apresentou melhores resultados em todos os ensaios realizados (*in vitro* e *in vivo*) em relação aos diferentes extratos de melão-de-são-caetano obtidos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMNART, T.; CHADIN, D. Insecticidal activity of organic substance in *Momordica charantia* L. **Kasetsart University**, Bangkok, 1983. p. 220-221.

ANTHONY, S.; BEYWICKRAMA, K.; DAYANANDA, R.; WIJERATNAM, S.W.; ARAMBEWELA, L. Fungal pathogens associated with banana fruit in Sri Lanka, and their treatment with essential oils. **Mycopathologia**, v.157, 2004. p.91-97.

ANWAR, Z.; AYUB, N.; KHAN, A. G. Antibacterial ability of extracts from arbuscular mycorrhizal roots of *Allium sativum* L. and *Momordica charantia*. **Hamdard Medicus**, Paquistão, v.43, n.1, 2000. p. 29-33.

BACCHI, L.M.A.; NASCIMENTO, J.M.; GAVASSONI, W.L.; VIEIRA, M.C. Inibição *in vitro* de *Cercospora calendulae* por extratos de calêndula e melão-de-são-caetano. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília v.29, 2004. p.233. (Resumo).

BADGER, A.M. Influence of relative humidities on fungi causing crown rot of boxed bananas. **Phytopathology**, St. Paul, v.55, 1965. p.688-692.

BARBIERI, M. P. Mediação do saber popular em relação à autonomia da comunidade no cultivo da saúde. Disponível em: www.rizoma.ufsc.br/semint/trabalho%202/Maria%20Paschoalina%20Barbieri%20-%20MT.doc. Acesso em 20/09/2003.

BASCH, E.; GABARDI, S.; ULBRICHT, C. Bitter melon (*Momordica charantia*): A review of efficacy and safety. **American Journal of Health-system Pharmacy**, Bethesda, v. 60, n. 4, 2003. p. 356-359.

BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v.29, n.5, 2004. p. 255-257.

BENKEBLIA, N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). **Food Science and Technology**, v.37, n.2, 2004. p.263-268.

BONALDO, S.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R; TESSMANN, D.J.; SCAPIM, C.A. Fungitoxicidade, atividade elicitor de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.2, 2004. p.128-134.

CASTELLANI, A. Viability of some pathogenic fungi in distilled water. **Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Northbrook, v.42, 1939. p.225.

CELOTO, M.I.B. **Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides***. 2003. 44p. (Trabalho de graduação) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2003..

CELOTO, M.I.B.; PAPA, M.F.S.; SACRAMENTO, L.V.S. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.30, n.1, 2004. p.122. (Resumos).

CHAKRAVARTY, T. Antrachnose of banana (*Gloeosporium musarum* Cke & Massee) with special reference to latent infection in storage. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.40, 1957. p.337-345.

CORDEIRO, Z.J.M. Doenças e métodos de controle. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Banana/BananaRondonia/doencas.htm>. Acesso em 18/07/2005.

CORDEIRO, Z.J.M.; KIMATI, H. Doenças da bananeira. In: KIMATI, H. et al. (Eds.) **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.112-136.

CORDEIRO, Z.J.M.; MATOS, A.P. Doenças da bananeira. In: FREIRE, F.C.O.; CARDOSO, J.E.; VIANA, F.M.P. (Eds.). **Doenças de fruteiras tropicais de interesse agroindustrial**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p.323-390.

DIAS, C. R.; SCHWAN, A. V.; EZEQUIEL, D.P.; SARMENTO, M. C.; FERRAZ, S. Efeito de extratos aquoso de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. **Nematologia Brasileira**, Brasília, v.24, n.2, 2000. p.203-210.

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

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Disponível em: **www.epa.gov**. Acesso em 25/04/2005.

FALKENBERG, M.B.; SANTOS, R.I.; SIMÕES, C.M.O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Eds.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2004. p.229-246.

FOFANA, B.; MCNALLY, D.J.; LABBÉ, C.; BOULANGER, R.; BENHAMOU, N.; SÉGUIN, A.; BÉLANGER, R. Milsana-induced resistance in powdery mildew-infected cucumber plants correlates with induction of chalcone synthase e chalcone isomerase. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, London, n.61, 2002. p.121-132.

GOOS, R.D.; TSCHIRSCH, M. Effect of environmental factors on spore germination, spore survival, and growth of *Gloeosporium musarum*. **Mycologia**, Albuquerque, v.54, 1962. p.353-367.

GURBUZ, I.; AKYUZ, C.; YESILADA, E.; SENER, B. Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, The Netherlands, v.71, n.1-2, 2000. p.77-82.

HARPER, D.B.; SWINBURNE, T.R.; MOORE, S.K.; BROWN, A.E., GRAHAM, H. A role for iron in germination of conidia of *Colletotrichum musae*. **Journal of General Microbiology**, Edinburgh, v.121, 1980. p.169-174.

JUNQUEIRA, N.T.V.; CHAVES, R.C.; NASCIMENTO, A.C.; RAMOS, V.H.V.; PEIXOTO, J.R.; JUNQUEIRA, L.P. Efeito do óleo de soja no controle da antracnose e na conservação da manga cv. Palmer em pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v.26, n.2, 2004. p.222-225.

KUEPPER, G.; SULLIVAN, P. Oic alternatives for late blight control in potatoes. 2001. Disponível em: **www.attra.ncat.org**. Acesso em 10/05/2005.

LEE-HUANG, S.; HUANG, P.L.; CHEN, H.C. et al. Anti-HIV and anti-tumor activities of recombinant MP30 from bitter melon. **Gene**. v.161, 1995. p.151-156.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, parasitas e tóxicas**. 3 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum da Flora, 2000. 608p.

MARTINEZ, S.S. **O Nim – *Azadirachta indica* – Natureza, Usos Múltiplos, Produção**. Londrina: IAPAR, 2002. 142p.

MATOS, F.J.A. **Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades.** 4 ed. Fortaleza: Editora UFC, 2002. 267p.

McCRAKEN, A.R.; SWINBURNE, T.R. Effect of bactéria isolated from surface of banana fruits on germination of conidia *Colletotrichum musae* (Berk. And Curt.) Arx. **Transactions of the British Mycological Society**, v.74, 1980. p.212-213.

MEREDITH, D.S. Some fungi on decaying banana leaves in Jamaica. **Transactions of the British Mycological Society**, London, v.45, 1962. p.335-347.

MISSIO, V.C. **Eficiência do uso de indutores de resistência de plantas no controle da antracnose e mancha alvo da acerola (*Malpighia emarginata* D.C.).** 2004. 82p. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Engenharia, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Ilha Solteira, 2004.

MUIRHEAD, I.F. The role of appressorial dormancy in latent infections. In: BLAKEMAN, J.P (Ed.) **Microbial Ecology of the Phylloplane.** London: Academic Press, 1981. p.155-167.

NARUZAWA, E.S., PAPA, M.F.S., SACRAMENTO, L.V.S. Atividade antifungica de extratos de plantas de cerrado a *Corynespora cassiicola* da acerola. **Summa Phytophologica**, Botucatu, v.31, supl., 2005. p.92-92. (Resumos)

OBAGWU, J; KORSTEN, L. Controlo f citrus green and blue molds with garlic extracts. **European Journal of Plant Pathology**, Dordrecht, v.109, n.3, 2003. p.221-225.

PANDEY, R.; KALRA, A.; SINGH, S.C.; GUPTA, M.L. *Bacopa monnieri* damaged by root-knot nematode and remedial measures. **Journal of Tropical Medicinal Plants**, Malásia, v.4, n.1, 2003. p.123-127.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. Piracicaba: Nobel, 1985. 466p.

POSER, G.L.; MENTZ, L.A. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Eds.). **Farmacognosia: da planta o medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2004. p.75-89.

PRUSKY, D. Pathogen quiescence in postharvest diseases. **Annual Review of Phytopathology**, Davis, v.34, 1996. p.413-434.

RANSINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeylanicum* (L.) and *Syzygium romaticum* (L.) Merr et L.M.Perry against crown rot and anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, Cardiff, v.35, 2002. p.208-211.

ROBINSON, R.W.; DECKER-WALTERS, D.S. **Cucurbits**. New York: Cab International, 1997. 226p.

ROEL, A.R. Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. **Revista Internacional de Desenvolvimento Local**, Campo Grande, v. 1, n. 2, 2001. p.43-50.

SARMA, R., PHOOKAN, A.K. & BHAGABATI, K.N. Efficacy of some plant extracts in the management of sheath blight disease of rice. **Journal of Mycology and Plant Pathology**, Índia, v.29, 1999. p.336-339.

SILVA, A.P.O., JUNQUEIRA, N.V., CHAVES, R.C.; FIALHO, J.F. & JUNQUEIRA, L.P. Efeito de defensivos naturais no controle da antracnose e na conservação de bananas em pós-colheita. **Anais**, 17º Congresso Brasileiro de Fruticultura, Belém, PA. 2002. CD-ROM.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 5 ed. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2004. 1102p.

SRIVASTAVA, U. S.; NERALIYA, S. Larvicidal activity of plant extracts on filaria mosquito, *Culex quinquefasciatus*. **Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B Biological Sciences**, Índia, v.67, n.2, 1997. p.111-115.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v.11, 1999. p.16-21.

SWINBURNE, T.R. Stimulants of germination and appressoria formation by *Colletotrichum musae* (Berk. & Curt.) Arx. in banana leachate. **Phytopathology Zeitschrift**, v.87, 1976. p.74-90.

TALAMINI, V.; STADNIK, M.J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: STADNIK, M.J.; TALAMINI, V. (Eds.) **Manejo ecológico de doenças de plantas**, Florianópolis, SC: CCA/UFSC, 2004. p.45-62.

THANGAVELU, R.; SUNDRARAJU, P. ; SATHIAMOORTHY,S. Management of anthracnose disease of banana caused by *Colletotrichum muse* using plant extracts. **The Journal of Horticultural Science and Biotechnology**, v.79, n.4, 2004. p.664-668.

TORRES, L. D.; ORTINERO,C. V. & MONSERATE, J. J. Crop wastes as potential sources of natural medicine/cosmetic products, pesticides/insecticides, and paper products. **PCARRD-Highlights-2001**, Philippines, 2002, p. 42-44.

VIEIRA, D.P. Esperam-se progressos na bananicultura. In: NEHMI, I.M.D. et al. **Agrianual 2005**: Anuário da agricultura Brasileira. São Paulo: FNP, 2004. p.221. (AGRINUAL, 2005).

VIRD, J.; SIVAKAMI, S.; SHAHANI, S.; SUTHAR, A. C.; BANAVALIKAR, M. M.; BIYANI, M. K. Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. **Journal of Ethnopharmacology**, The Netherlands, v.88, 2003. p.107-111.

WADE, G.C. & CRUICKSHANK, R.H. The establishment and structure of latent infections with *Monilinia fructicola* on apricots. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.136, 1992. p.95-106.

WIN fit-2000: Compêndio agronômico com receituário. Viçosa: Bioagro, 2004. 1 – CD-Rom.