



**UNIVERSIDADE DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL**

MONOGRAFIA

EFEITO DO EXTRATO BRUTO DE MELÃO-DE-SÃO-CAETANO (*Momordica charantia* L.) NA INIBIÇÃO “IN VITRO” DO CRESCIMENTO MICELIAL E DA ESPORULAÇÃO DE *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. AGENTE DA ANTRACNOSE EM PLANTAS CULTIVADAS.

ERNANI FÊLIX FERREIRA DE ALMEIDA

Monografia apresentada ao Colegiado do Curso de Engenharia Florestal da Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade do Amazonas, para obtenção do grau de Engenheiro Florestal.

**MANAUS – AMAZONAS
NOVEMBRO - 1998**

T
001/98



**UNIVERSIDADE DO AMAZONAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE ENGENHARIA FLORESTAL**

MONOGRAFIA

EFEITO DO EXTRATO BRUTO DE MELÃO-DE-SÃO-CAETANO (*Momordica charantia* L.) NA INIBIÇÃO “IN VITRO” DO CRESCIMENTO MICELIAL E DA ESPORULAÇÃO DE *Colletotrichum gloeosporioides* PENZ. AGENTE DA ANTRACNOSE EM PLANTAS CULTIVADAS.

ORIENTADOR: M.SC. ERNESTO OLIVEIRA SERRA PINTO

CO-ORIENTADORES: ANANIAS ALVES CRUZ

NORMA C. RODRIGUEZ BUSTAMANTE

Monografia apresentada ao Colegiado do Curso de Engenharia Florestal da Faculdade de Ciências Agrárias, da Universidade do Amazonas, para obtenção do grau de Engenheiro Florestal.

**MANAUS – AMAZONAS
NOVEMBRO - 1998**

*A meu pai Raimundo e a minha mãe
Maria pelo incentivo, apoio e por
não medir esforços para o êxito de
minhas realizações.*

Dedico

*A minha esposa Eliana pela
paciência e compreensão que tem
dispensado para minha plena
realização e aos meus filhos Thiago e
Matheus razão maior dos meus
anseios.*

Ofereço

AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida.

Ao Centro de Pesquisa Agroflorestral da Amazônia Ocidental – CPAA-AM.

Aos professores Ernesto Oliveira e Norma Bustamante pelas orientações e sugestões no decorrer deste trabalho.

Ao professor Ananias Cruz que sempre me orientou e ajudou nos momentos mais difíceis.

Ao professor Ulisses da Cunha pela simplicidade e competência.

Aos Drs. Alberto Morales, Luadir Gasparotto, Cláudio Izel, Jasiel Nunes, Cravo, Franco de Sá, Sebastião Eudes, Jeferson, Marinice Cardoso, pelo apoio e amizade.

Ao amigo Rosildo pela inestimável ajuda para conclusão do curso de graduação.

Aos companheiros técnicos agrícolas do CPAA, em especial ao compadre Sabino, Nilo, Mario Kokay, Ednilson e Luiz Andrade, pela boa convivência e amizade durante inúmeros finais de semana de trabalho.

À colega laboratorista Aldinea Côrrea, pelo auxílio técnico.

Aos colegas Raimundinho, Rosinete e Esterzinha, pelo apoio dado através da informática.

Ao amigo “Tirico” pelo apoio.

Aos colegas acadêmicos Leandro, Guilherme, Marcos, Eyde, Zigomar, Carla, Deca, Dario, Pantoja, Tarcísio, Márcio, Zerboni, Elen, Romilda, Roberta, Rejane, Odécio, Emanuelle, Keilla, Serjão, Ilana, Luciana, Daniel, pela amizade.

Aos irmãos Núbia, Elbio e Fátima pelo incentivo.

Finalmente a todos que de uma forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	iv
RESUMO	v
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	4
2.1. GERAL	4
2.2. ESPECÍFICOS	4
3. REVISÃO DE LITERATURA	5
3.1. DEFINIÇÃO E SINTOMAS DA DOENÇA	5
3.2. OCORRÊNCIA E GAMA DE HOSPEDEIROS	7
3.3. ETIOLOGIA E CARACTERÍSTICAS REPRESENTATIVAS	7
3.4. EPIDEMIOLOGIA	8
3.5. CONTROLE	8
3.6. EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE MICRORGANISMOS	8
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1. OBTENÇÃO DOS ISOLADOS FÚNGICOS	13
4.2. ISOLAMENTO DOS PATÓGENOS FÚNGICOS	13
4.3. PREPARO DO EXTRATO VEGETAL ALCOÓLICO	14
4.4. PREPARO E ESTERILIZAÇÃO DO MEIO DE CULTURA (BDA)	15
4.5. CONCENTRAÇÃO DOS TRATAMENTOS	15
4.6. PLAQUEAMENTO E INOCULAÇÃO DOS MEIOS	16
4.7. INCUBAÇÃO DAS PLACAS	16
4.8. DETERMINAÇÃO DO CRESCIMENTO DOS ISOLADOS	16
4.9. DETERMINAÇÃO DA ESPORULAÇÃO	17
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5.1. CRESCIMENTO E INIBIÇÃO DE <i>C. GLOESPORIOIDES</i>	18
5.2. ESPORULAÇÃO DE <i>COLLETOTRICHUM GLOESPORIOIDES</i>	31
5.3. CARACTERÍSTICAS CULTURAIS	40
6. CONCLUSÕES	41
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	43
8. ANEXOS	47

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado seringueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L. Manaus – AM, 1998. ----- 22
- Figura 2. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado cajueiro), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L. Manaus – AM, 1998. ----- 22
- Figura 3. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado mangueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L. Manaus – AM, 1998. ----- 23
- Figura 4. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado S), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 23
- Figura 5. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado C), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 24
- Figura 6. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado M), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 24
- Figura 7. Percentagem de inibição de crescimento de *C. gloeosporioides* (isolado S), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 27
- Figura 8. Percentagem de inibição de crescimento de *C. gloeosporioides* (isolado C), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 27
- Figura 9. Percentagem de inibição de crescimento de *C. gloeosporioides* (isolado M), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 28
- Figura 10. Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado S), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.. ----- 34
- Figura 11. Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado C), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 34
- Figura 12. Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado M), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 35

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Médias para efeito de crescimento micelial (mm), de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado seringueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L. Manaus – AM, 1998. ----- 19
- Tabela 2.** Médias para efeito de crescimento micelial (mm), de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado cajueiro), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L. Manaus – AM, 1998.- 20
- Tabela 3.** Médias para efeito de crescimento micelial (mm), de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado mangueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L. Manaus – AM, 1998. ----- 21
- Tabela 4.** Percentagem de inibição do crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado seringueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998. ----- 25
- Tabela 5.** Percentagem de inibição do crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado cajueiro), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998. ----- 25
- Tabela 6.** Percentagem de inibição do crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado mangueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998. ----- 26
- Tabela 7.** Médias para efeito de crescimento (mm) de *C gloeosporioides* (isolado S), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 28
- Tabela 8.** Médias para efeito de crescimento (mm) de *C gloeosporioides* (isolado C), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 29
- Tabela 9.** Médias para efeito de crescimento (mm) de *C gloeosporioides* (isolado M), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 29
- Tabela 10.** Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (Isolado S), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998. ----- 32
- Tabela 11.** Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (Isolado C), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998. ----- 33
- Tabela 12.** Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (Isolado M), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998. ----- 33
- Tabela 13.** Médias para efeito das diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., na esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado S), no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 35
- Tabela 14.** Médias para efeito de diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L. na esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado C), no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 37
- Tabela 15.** Médias para efeito das diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., na esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado M), no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998. ----- 38

RESUMO

Três isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., de seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell-Arg.), cajueiro (*Anacardium occidentale* L.) e mangueira (*Mangifera indica* L.) foram estudados quanto ao efeito do extrato bruto de *Momordica charantia* L. no seu crescimento e esporulação. O extrato vegetal foi obtido de folhas e ramos da planta, utilizando-se como substância extratora o etanol. O extrato obtido foi submetido à câmara de ventilação para evaporação do extrator, e esterilizado sob lâmpada germicida. O extrato foi adicionado ao meio BDA (Batata-dextrose-ágar) nas concentrações de 1%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25%. Os tratamentos foram colocados em placa de Petri de 90 mm de diâmetro, e incubado em temperatura de 26 a 28^oC, e a avaliação da taxa de crescimento micelial foi determinada a intervalos de 24 horas, até o período de 192 horas. A esporulação foi determinada em câmara de Neubauer sob microscópio composto, objetiva de 40x. Foi determinado também, no final do período de incubação, a percentagem de inibição do patógeno nas diferentes concentrações. Os resultados obtidos indicam que o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* foi inibido na proporção que a concentração do extrato bruto vegetal foi aumentando. Nas concentrações de 20% e 25% os isolados do patógeno provenientes de mangueira e seringueira não cresceram. O isolado de cajueiro cresceu até a concentração de 20% de extrato vegetal no meio. De forma geral, as diferentes concentrações inibiram o crescimento do fungo em diferentes percentuais, geralmente crescente com o aumento da concentração do extrato. O extrato bruto vegetal não teve influência marcante na esporulação de *C. gloeosporioides*, mostrando que os resultados os resultados dependem da inibição do crescimento. O extrato bruto vegetal de melão-de-são-caetano apresenta potencial de controle “in vitro” de *C. gloeosporioides*, e pode ser utilizado em futuros estudos que permitam desenvolver formulação para aplicação sob a forma de pulverização foliar na prevenção e controle do patógeno.

1. INTRODUÇÃO

As doenças causadas por patógenos foliares estão entre os fatores que mais contribuem para a queda de produção entre as espécies frutíferas tropicais. São causas determinantes de seu aparecimento: as condições altamente favoráveis à disseminação e ao desenvolvimento de fitopatógenos associados a doenças da parte aérea, e as condições de alta umidade relativa do ar, que combinadas com altas temperaturas, características das condições climáticas predominantes no trópico úmido, proporcionam os meios ideais de proliferação de doenças. Outros fatores abióticos e edáficos também contribuem para o aparecimento de doenças em fruteiras tropicais, entre eles, a umidade e a fertilidade dos solos.

Entre as doenças que atacam as fruteiras tropicais e que se apresenta como um fator limitante à produção, destaca-se a antracnose. Essa doença afeta folhas, frutos, inflorescências, ramos e tecidos novos. O fungo causador da doença tem caráter polífago, parasitando um grande número de espécies botânicas tropicais, sejam arbóreas, herbáceas, cultivadas ou essências florestais cultivadas e nativas, como a seringueira (*Hevea brasiliensis* Muell-Arg.).

Os sintomas da antracnose se manifestam de várias formas, e dependem da suscetibilidade do hospedeiro, da patogenicidade do agente, do órgão afetado e, principalmente, das condições ambientais favoráveis. Nas folhas, o patógeno determina crestamento e encarquilhamento do limbo foliar, resultando em diminuição da área fotossintética. Nas inflorescências, o patógeno causa necrose e queda de flores. Nos frutos novos, o fungo necrosa e posteriormente causa a queda dos mesmos. Nos frutos em estágio de maturação, o patógeno induz podridões moles e secas, às vezes delimitadas e originárias de infecções latentes, ocorridas durante o manuseio dos frutos na colheita e no transporte. Essas

infecções só irão se manifestar por ocasião do amadurecimento do fruto, como lesões necróticas deprimidas que, ao coalescer, resultam na completa podridão do fruto.

Entre as espécies comumente cultivadas em nossa região, identificadas como hospedeiras do fungo, encontram-se: mangueira (*Mangifera indica* L.), cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), seringueira (*H. brasiliensis* Muell-Arg.), arça-boi (*Eugenia stipitata* Mac Vaugh.), mamoeiro (*Carica papaya* L.), goiabeira (*Psidium guajava* L.), pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth.).

O controle de doenças de plantas através de agentes biológicos tem se constituído, nos últimos anos, motivo de inúmeras pesquisas com resultados extremamente promissores. A pesquisa de substâncias alternativas de origem vegetal no controle de fitopatógenos, se justifica plenamente na medida que a região amazônica comporta a maior e mais diversificada floresta tropical do planeta, constituindo-se, por tanto na mais rica fonte de pesquisa sobre a questão. Os princípios ativos contidos em toda essa imensa diversidade florística podem ser selecionados, investigados, identificados e utilizados não somente no tratamento de patologias humanas e animais- na área médico-farmacêutica, mas também no combate a pragas e no controle de doenças importantes que afetam um grande número de plantas cultivadas e essências florestais nativas e introduzidas. A seleção de agentes com atividade antagônica a patógenos do solo causadores de podridões radiculares em diversas plantas cultivadas é hoje uma realidade. São exemplos os efeitos antibióticos e de parasitismo de algumas bactérias e fungos sobre fitopatógenos como *Pseudomonas* spp., *Streptomyces* spp, *Trichoderma* spp e *Verticillium* spp., etc. (BAKER, 1974, COOK & BAKER, 1989).

Estudos envolvendo variados agentes etiológicos causadores de doenças em plantas mostram que o controle desses agentes fitopatogênicos por princípios ativos contidos no extrato bruto de plantas com princípios ativos antifúngicos e antibacterianos tem amplo potencial de eficiência e podem substituir os defensivos químicos com vantagens e benefícios para o homem, para as plantas e para o meio ambiente. Segundo ASHRAFUZZMAN (1991), vários trabalhos experimentais recentes, em diferentes laboratórios têm relatado as propriedades antimicrobianas de extratos de plantas superiores. Esses extratos, na sua opinião, são baratos e de fácil preparação, mesmo em condições rurais. Dessa forma, assegura, desde que os resultados indiquem a eficiência dos extratos de plantas contra fitopatógenos, deverá ser feita uma seleção extensiva desses extratos, e depois o potencial de controle deverá ser explorado utilizando somente os materiais eficientes.

Este trabalho teve como objetivo testar, o efeito do extrato bruto de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.), no controle do agente etiológico de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) em mangueira, cajueiro e seringueira.

RESUMO

Verificou-se o efeito do extrato bruto de melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.) no controle de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) em mangueira, cajueiro e seringueira.

1. Introdução

Estudar a influência do extrato bruto de melão-de-são-caetano na redução de esporulação e esporulação "in vitro" de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Determinar o índice de esporulação "in vitro" e a concentração mínima, em termos percentuais, de extrato vegetal que impede crescimento do patógeno.

Determinar a concentração mínima percentual do extrato vegetal necessário para esporulação "in vitro" do patógeno.

Estudar a influência do extrato bruto de melão-de-são-caetano no controle de antracnose em mangueira, cajueiro e seringueira.

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Avaliar o efeito do extrato bruto do melão-de-são-caetano (*Momordica charantia* L.), no controle de antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) em mangueira, cajueiro e seringueira.

2.2. Específicos

Estudar a influência do extrato bruto do melão-de-são-caetano na inibição do crescimento micelial, e esporulação “in vitro” de *C. gloeosporioides*

- Determinar o índice de inibição do extrato e a concentração mínima, em termos percentuais, de extrato vegetal que inibe o crescimento do patógeno.

- Determinar a concentração mínima, percentual, do extrato vegetal no meio que inibe o crescimento e a esporulação do patógeno.

- Obter a curva de crescimento de *C. gloeosporioides* em diferentes níveis de concentração de extrato bruto de melão-de-são-caetano.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Definição e sintomas da doença

O termo “antracnose” vem do grego “antrac”, carvão + “ose”, moléstia, significando em Fitopatologia, doenças caracterizadas por apresentarem lesões pretas e profundas (VIEGAS, 1979). Essas doenças também, são conhecidas por “black spot” ou “anthracnose”, em inglês; “anthracnose”, em alemão; “antracnosis”, em espanhol e “l,anthracnose”, em francês (KRANZ *et al.*, 1978).

Segundo AGRIOS (1988), as antracnoses são doenças que atacam a folhagem, os ramos os frutos, produzindo sintomas de pequenas e grandes manchas escuras, ou lesões levemente deprimidas e bordas salientes. Além de manchas foliares, a antracnose, segundo o autor, tem um prolongado estágio de latência na infecção de frutos, podendo causar morte de ponteiros (dieback) e brotos. Além disso, afirma, a doença é muito séria em fruteiras cultivadas e os sintomas são diversos, de acordo com a parte da planta atacada.

Os sintomas iniciais da antracnose em seringueira manifestam-se nas folhas novas, brotações e frutos. Nas folhas as lesões são diminutas, com 1 a 3 mm de diâmetro, geralmente numerosas e dispersas no limbo. Nos frutos, as lesões causam rachaduras e apodrecimento na casca. Nos ramos verdes, as infecções geralmente ocorrem nas suas inserções com o galho. Em geral, nas lesões de *C. gloeosporioides*, podem ser observadas massas róseas, provenientes de abundante esporulação conidial do patógeno que sai dos acérvulos.

A antracnose desenvolve-se na parte aérea, provocando lesões necróticas nos ramos terminais, em talos, folhas, estruturas florais e frutos em diversos estágios de desenvolvimento. Nos ramos, os sintomas aparecem primeiramente nos mais novos, com o aparecimento de manchas escuras e necróticas que, com o tempo determinam seca descendente. Na folhas os sintomas da doença se apresentam como manchas de cor marrom, com formato oval ou irregular. As lesões podem confluir e determinar crestamento em todo o limbo foliar. Na inflorescência os sintomas se apresentam como pequenas manchas escuras sobre as flores que com o tempo podem coalescer, resultando na sua queda. (CAVALCANTE, 1981). Segundo o autor, a antracnose é a mais importante doença da cultura do cajueiro (*Anacardium occidentale* L.), atacando a planta em todos os seus estágios de desenvolvimento, porém, os principais sintomas são evidenciados nas folhas (manchas e crestamentos), inflorescências (seca e quedas de flores) e frutos (lesões deprimidas).

ALEXOPOULOS & MIM (1979), citam que as antracnoses são causadas por fungos que produzem seus esporos assexuais, os conídios, dentro de corpo de frutificação escuros chamados acérvulos que se apresentam de forma agrupada ou escassa. Os fungos imperfeitos que produzem conídios dentro de acérvulos estão classificados na ordem Melanconilaes, sendo que nessa ordem estão alguns dos fungos fitopatogênicos mais importantes, pertencentes ao gênero *Colletotrichum*, no qual está incluída a espécie *Colletotrichum gloeosporioides*, estágio imperfeito do ascomiceto *Glomerella cingulata*, agente causal de antracnose em plantas tropicais e subtropicais em todo o mundo.

BALMER (1980) afirma que a antracnose da mangueira, de modo geral, é uma doença importante em nosso meio. Segundo o autor, em condições favoráveis, a doença pode causar prejuízos sérios, afetando ramos e folhas, destruindo inflorescências e causando podridões em frutos. O agente causal da doença pode atacar tanto frutos novos, frutos em desenvolvimento, como frutos maduros. Nesses os sintomas se apresentam como manchas negras, de formato variado, que podem ser deprimidas ou revelando o rompimento da casca. Em frutos verdes, o agente determina manchas em forma de “gotas em lágrimas”. Várias medidas são recomendadas para o controle da doença, entre elas poda de limpeza durante o período de repouso, pulverizações com fungicidas cúpricos, ou produtos à base de maneb, zineb ou tiofanato metílico.

3.2. Ocorrência e gama de hospedeiros

Segundo OGLE *et al.* (1986), espécies do grupo *Colletotrichum gloeosporioides* comumente ocorre nas regiões tropicais e subtropicais no mundo. O organismo ataca uma grande gama de hospedeiros, ocorrendo formas parasíticas e saprófitas.

SUTTON (1980) relata que há, no herbarium da Commonwealth Mycological Institute, somente *C. gloeosporioides* foi representado por 470 diferentes gêneros de hospedeiros. Mais de 600 sinónimas existe para este fungo, sendo que a separação dessas espécies foi feita com base nas características dos conídios, como tamanho, coloração número de septos, etc. Segundo o autor *C. gloeosporioides* compreende as espécies que produza conídios retos, obtusos no ápice, com 9-24 x 3-4,5µm e apressório de 6-20 x 4-12µm, clavado ou morfológicamente regular.

A antracnose é uma doença cosmopolita que afeta inúmeras espécies botânicas tropicais e subtropicais, entre elas frutíferas e essências florestais, como cajueiro (*A. occidentale* L.), mangueira (*Mangifera indica* L.), e seringueira (*H. brasiliensis* Muell-Arg.) (BALMER, 1980; GASPAROTTO *et al.*, 1990). Os autores citam também que esta doença é constatada praticamente em todos os países onde a seringueira é cultivada. No Brasil, ocorre com maior severidade nos estados da região Norte, causando lesões foliares, desfolhamento e mortalidade de ramos e galhos.

3.3. Etiologia e características representativas

KULSHRESTHA *et al.* (1976) afirmam que *Colletotrichum gloeosporioides* Penz é o estágio imperfeito de *Glomerella cingulata* (Stonem.) Spauld. & Skhr. Os autores descrevem as características reprodutivas do patógeno, afirmando que o mesmo produz acérvulos simples ou em grupos, às vezes assemelhando-se a picnídios, emergindo de manchas cinza-escuras. Conídios em massa de cor alaranjada, porém individualmente apresentam-se hialinos.

O gênero *Colletotrichum* Cda. (Corda 1831) são fungos imperfeitos caracterizados por produzirem setas escuras, conídios e conidióforos dentro de corpo de frutificação chamado acérvulos. Os conídios podem ser hialinos, unicelulares, falcados ou retos (COX & IRWIN, 1988).

Segundo Von ARX (1974) o gênero *Colletotrichum* produz acérvulos com setas escuras nas extremidades e marrom-escuro na base. Produz conídios hialinos sobre conidióforos pequenos e apressórios.

3.4. Epidemiologia

O fungo é favorecido por altas temperaturas e tempo úmido. Os conídios são liberados e disseminados somente quando os acérvulos absorvem água, sendo essa disseminação feita pelos respingos de chuva e pelo vento.

3.5. Controle

Segundo BERGAMIN FILHO & CARDOSO (1980), normalmente a antracnose da seringueira não exige o emprego de medidas de controle. Nos casos onde a doença ocorre com elevada incidência e severidade, em viveiros, os autores recomendam a aplicação de fungicidas cúpricos em pulverizações.

O controle biológico consiste na redução da densidade de inóculo ou parasita em seu estado ativo ou dormente, por um ou mais organismo, ou através de manipulação do ambiente, hospedeiro antagônico, ou pela introdução de um ou mais antagônicos (MENEZES, 1987).

Da mesma forma, o controle biológico pode ser feito com extratos vegetais, os quais representam bom potencial para controle de fungos benéficos e vírus (ASHRFUZZAN, 1991).

3.6. Extratos vegetais no controle de microrganismos

As pesquisas sobre extratos vegetais no combate às pragas e no controle de algumas doenças de plantas, de importância econômica tomaram impulso a partir dos últimos 10 anos, em consequência dos problemas decorrentes à aplicação dos produtos químicos, que vão desde o aumento dos preços dos produtos agrícolas até os riscos de contaminação do meio ambiente, dos alimentos, recursos hídricos e à própria saúde do homem e de suas criações. Várias plantas já foram selecionadas e identificadas por suas propriedades fungicidas e fungistáticas, porém, as etapas de purificação dos ingredientes ativos e suas formulações para aplicação via pulverizações ainda não estão bem pesquisados, embora possam ser encontradas

no mercado formulações biológicas à base de vários produtos (toxinas, ácidos orgânicos, fenóis, etc) elaborados por antagonistas das mais diversas espécies. Um exemplo são as formulações com *Metarrhizium anisopliae*, utilizado no controle de cigarrinha das pastagens, que causa danos a cana de açúcar. Neste caso o próprio fungo é o agente de controle do inseto. No campo da fitopatologia tem sido utilizados muitos fungos saprófitas como biocontroladores de patógenos que causam importantes doenças em plantas cultivadas, como pode ser relatada no caso de *Trichoderma viride* x *Macrophomina phaseolina* (parasitismo de hifas), COOK & BAKER (1989).

O uso de extratos vegetais no controle de doenças de planta é relatado por diversos pesquisadores. VALARINI *et al.* (1991) estudaram a inibição de fitopatógenos por extrato de plantas superiores. No estudo, usaram extrato de folhas, cascas e raízes na inibição "in vitro" do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*, *Sclerotium rolfsii*, *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia solani*, e atividade antibacteriana contra *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato*. De acordo com os resultados obtidos, os autores citam as plantas *Quassia* sp. *Simaba cedron*, *Pterocaulon balansae*, *Sambucus nigra*, *Simaruba amana* e *Chenopodium ambrosioides*, como as que possuem maiores potenciais no controle dos fitopatógenos. A espécie botânica *M. charantia* L. é relatada como espécie potencial no controle de alguns fungos e bactérias fitopatogênicos do solo, de maneira que pesquisa, a nível regional, no controle de doença foliar importante para frutíferas, como a antracnose, se justifica (ASHRAFUZZAMAN, 1991).

O efeito de oito extratos de plantas sobre duas viroses foi estudado por ALEXANDRE *et al.* (1987), mostrando-se altamente eficiente no controle de Vírus do Mosaico do Tabaco (TMV-Leg), e do Mosaico Dourado do Feijoeiro (BGMV), reforçando a idéia de que plantas da ordem Caryophyllales constituem material apropriado para estudos sobre inibidores naturais.

De acordo com FERRACINI & MELO (1990) o extrato etanólico de *Chenopodium ambrosioides* inibiu o crescimento micelial e a germinação de escleródios de *Sclerotium rolfsii*, com os patógenos apresentando, porcentagem de sobrevivência de escleródios de zero quando tratados até a diluição de 1: 100 (v/v). Também VALARINI *et al.* (1991) testou o efeito do extrato etanólico de *C. rolfsii*, chegando a resultados de controle similares aos encontrados pelos autores citados.

ASHRAFUZZAMAN (1991) pesquisou as propriedades de extrato de plantas contra *Rhizoctonia solani*, *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* e *Erwinia carotovora* pv.

carotovora, agentes causais da “Queima da bainha” do arroz, “Queima bacteriana” do arroz, e “Podridão mole” da batata (*Solanum tuberosum* L.), respectivamente. O estudo demonstrou que, o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* foi inibido até certo ponto pelo extrato bruto das espécies *Duranta plumeri*, *Polygonum hidropiper*, *Momordica charantia* e *Hydrocotyl asiatica*. Halo de inibição de crescimento de *X. Campestris* pv. *oryzae* foi obtido com extratos de *Piper nigran* e *Hibiscus rosa sinensis* e de *E. Carotovora* pv. *carotovora* por extrato de *Physalis heterophylla*, *Eclipta prostrata*, *Ipomoea aquatica* e *Sesasum indicum*. O autor relata ainda, que vários trabalhos experimentais recentes em diferentes laboratórios têm demonstrado as propriedades antimicrobianas de extratos de plantas superiores. Esses extratos, na sua opinião, são baratos e de fácil preparação, mesmo no meio rural. Dessa forma, recomenda que, desde que os resultados indiquem a eficiência dos extratos de plantas contra fitopatógenos, deverá ser feito uma seleção extensiva desses extratos, e depois o potencial de controle deverá ser explorado utilizando materiais mais eficientes.

SADI *et al.* (1990) estudaram a influência de vários extratos vegetais no controle de fungos. Encontraram resultados promissores de controle do extrato metanólico de folhas de *Quassia* sp sobre *Fusarium moniliforme* e *Rhizoctonia solani*; outros resultados de controle fúngicos foram obtidos com extrato metanólico da raiz de *Simaba cedron*, e o extrato aquoso em *Sclerotium sclerotiorum*; extrato acetônico foliar de *Simaruba amara* em *R. solani* e *S. sclerotiorum*; utilizaram também o extrato metanólico (parte aérea) e acetato de etila, tanto para *F. moniliforme* como em *R. solani* e *S. sclerotiorum*. VALARINI *et al.* (1991) encontraram resultados semelhantes no controle de *S. sclerotiorum*, *F. moniliforme* e *R. solani* utilizando diversos extratos de plantas superiores, inclusive cascas, folhas e raízes de *Quassia* sp. , *S. cedron*, *Pterocaulon balansae*, *S. amara* as mesmas espécies que foram eficientes no trabalho dos autores citados.

CATARINO *et al.* (1990) pesquisaram os efeitos dos extratos clorofórmico de folhas de *Tagetes minuta* e etanólico de folhas de *Vernonia condensata* sobre a germinação de uredinosporos de *Hemileia vastatrix* os resultados obtidos foram bastante promissores, sendo que no extrato de *V. condensata* as porcentagens de inibição de uredinosporos de *H. vastatrix* chegou até 96%, para o extrato de *T. minuta* alcançou-se também porcentagem de até 96% de inibição.

NORONHA *et al.* (1990) estudaram vários extratos vegetais no controle de infecção viral. Os extratos foram preparados a partir de folhas de *Alternathera amoena*, *A. brasiliiana*, *A. ficoidea*, *Amaranthus viridis*, *Bongainvillea spectabilis*, *Chenopodium*

amaranticolor, *C. guinos*, *Iresine herbstii*, *Mirabilis jalapa* e *Phitolacca thirsiflora*. Observou-se que todos os extratos experimentados foram capazes de inibir a infecção sistêmica TMV-leg. Em *Phaseolus vulgaris* "Rico 23". Extratos de *B. spectabilis*, *M. jalapa* e *P. thirsiflora* inibiram os sintomas sistêmicos de PVx e PVy da batata em *Nicotina tabacum* "White Burley" e os sintomas do vírus do vira-cabeça do tomateiro (TSWV), em *Lycopersicon sculetum* "Kada". A eficiência desses extratos, na inibição da infecção sistêmica, pode estar ligada a indução de resistência ou à produção de fatores antivirais nas plantas tratadas.

CATARINO *et al.* (1990) avaliaram os efeitos dos extratos clorofórmico de folhas de *Tagetes minuta* e hexânico das folhas de *Vernonia polyanthes* a 1% da concentração em BDA sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytes cinera* e *Trichoderma* sp. , o extrato de *V. polyanthes* inibiu o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em 36,3 e 54,3% e de *B. cinera* em 23,3 e 38,5%, respectivamente. O extrato de *T. minuta* inibiu em 38,0 e 48,0% o crescimento micelial de *C. gloeosporioides* em 18,3 e 14,7% o de *B. cinera*, respectivamente. Os extratos na concentração estudada, não inibiram o crescimento micelial de *Trichoderma*.

NETO *et al.* (1990) testaram os extratos etílicos e aquosos das espécies vegetais *Simaruba amara*, *Cyperus rothundus*, *Synphytum officinale*, *Lonchocarpus* sp. , *Melia azedarach*, *Chenopodium anthelmintium*, *Ruta graveolens*, *Spathodea campanulata*, *Cnidioscolus urens* no controle de *Plutella xyslostella*, conhecida vulgarmente por traça das crucíferas, quando do ano de utilização do extrato, não ocorreu incidência da praga no local do experimento.

Há na literatura inúmeras referências (CHALTON & CARVALHO a, 1987; CHALTON & CARVALHO b, 1987; ALEXANDRE *et al.*, 1987), sobre trabalhos de pesquisas tratando do controle de patógenos de plantas e de insetos fitófagos através do extrato bruto de plantas. Todos são unânimes em enfatizar o potencial de controle de patógenos e insetos através do extrato bruto de plantas.

As pesquisas em controle biológico que utilizam fungos hiperparasitas, principalmente os Hyphomycetes, o controle de doenças de plantas através do extrato bruto de vegetais superiores, abre um campo vasto e interessante de trabalho no ramo dos produtos naturais no controle de patógenos de plantas economicamente importantes.

A importância de doenças como a antracnose, incidindo sobre plantas de valor econômico, sejam frutíferas, hortaliças ou essências florestais nativas e cultivadas, assim como as dispendiosas e até certas vezes ineficientes medidas de controle tradicionais, tem levado

muitos pesquisadores a buscarem métodos alternativos, mais eficientes e mais identificados com a realidade ecológica, econômica e social dos agricultores que atuam nessa região.

4. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido nos laboratórios de Fitopatologia do Centro de Pesquisa Agroflorestal da Amazônia Ocidental (CPAA/EMBRAPA), e do Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia (INPA), em Manaus no período de 09 de junho a 17 de junho de 1998.

4.1. Obtenção dos isolados fúngicos

Os isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* foram obtidos a partir de folhas de seringueira (*H. brasiliensis* Muell-Arg.), cajueiro (*A. occidentale* L.) e mangueira (*M. indica* L.) apresentando lesões típicas de antracnose no campo. Os materiais foram coletados no campo experimental da EMBRAPA e em pomares da periferia do município de Manaus/AM.

4.2. Isolamento dos patógenos fúngicos

Em ambiente asséptico (câmara de fluxo laminar), fragmentos de tecido foliar das três espécies botânicas, com aproximadamente 2,5 a 3,5 mm de diâmetro foram retirados da área de transição entre o tecido sadio e o tecido necrosado, com auxílio de lâmina de bisturi flambado.

Os fragmentos foram colocados em vidro de relógio e a seguir passados em solução de álcool a 70%, durante 30 segundos, com a finalidade de quebrar a tensão superficial e facilitar o contato dos fragmentos (12 para cada espécie) com a solução esterilizante, em

seguida os fragmentos foram desinfetados superficialmente numa solução de hipoclorito de sódio (NaClO), preparada na proporção de três partes de água destilada e esterilizada para uma parte do produto comercial (água sanitária a 2% do ingrediente ativo (i.a.), por 1,5 minutos. A desinfetação superficial teve por objetivo a eliminação de microrganismos secundários e possíveis saprófitas presentes no material.

As seções de tecido foliar foram a seguir lavadas em duas porções de água destilada e esterilizada, a fim de remover o excesso da solução desinfetante. Após esse procedimento, o material tratado foi submetido à câmara úmida, formada por placa de Petri contendo camada dupla de papel de filtro qualitativo esterilizado, que foi umedecida com água destilada e esterilizada, com a finalidade de induzir a esporulação do fungo na superfície do tecido lesionado. A incubação foi feita à temperatura ambiente ($28^{\circ} \pm 2$), sob luminosidade natural (12h de claro/12h de escuro).

Após a permanência do material em câmara úmida durante 72 horas, a área das lesões apresentava-se coberta de conídios do patógeno. Com auxílio de binocular estereoscópica (40 X) e estilete flambado, transferiu-se alguns desses conídios (de cada espécie), em condições assépticas, para cada meio BDA contido em placas de Petri e tubos de ensaio. Para obtenção de cultura monospórica, foi preparada, a partir de colônias crescidas em BDA, uma suspensão padrão de conídios em solução esterilizada de Tween-80 a 1%. Essa suspensão foi diluída 3 vezes (10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3}) e uma alíquota de 0,2 ml da última diluição foi colocada na placa de Petri e espalhada sobre o meio ágar. Após 24 horas, conídios germinados individualmente foram coletados, juntamente com fragmentos de meio, e a seguir, transferidos, em condições assépticas e isoladamente, para placas de Petri contendo meio BDA.

Tubos de ensaio com colônias derivadas de culturas monospóricas (isolados das três espécies), foram armazenados em geladeira a 4°C para serem utilizados nos trabalhos subsequentes.

4.3. Preparo do extrato vegetal alcoólico

O extrato vegetal bruto foi obtido a partir de folhas e ramos de melão-de-são-caetano, os quais foram coletados e lavados em água corrente e depois em água destilada e esterilizada. Uma amostra de 200g foi pesada e colocada em gral de porcelana (capacidade de dois litros) juntamente com 200ml de etanol, substância extratora dos componentes foliares. O

material ficou completamente submerso no extrator permanecendo assim por 24 horas. Depois foi filtrado em gaze dupla esterilizada e colocado em capela com lâmpada ultravioleta e sob ventilação por 24 horas, visando a evaporação do álcool e a esterilização do extrato vegetal. Em seguida foi colocado em Erlenmeyer estéril, e a seguir armazenado em geladeira.

4.4. Preparo e esterilização do meio de cultura (BDA)

O meio de cultura utilizado foi o Batata-Dextrose-Ágar (BDA), preparado da seguinte forma:

200 gramas de batatas descascadas e cortadas em fatias foram colocados para decoção em 500 ml de água destilada, por 15 minutos, 20 gramas de ágar foram fundidos em banho-maria, à parte, em 500 ml de água destilada contida em becker com capacidade de 1000 ml. Depois do ágar fundido, foi acrescentado 20 gramas de dextrose (fonte de C). O conteúdo dos dois recipientes foram misturado e distribuído em tubos de ensaio para posterior inoculação do patógeno. O meio de cultura (BDA) foi colocado em Erlenmeyer com capacidade de 1000 ml e esterilizado em autoclave à 121°C por 20 minutos, juntamente com os tubos tamponados com algodão, contendo o mesmo meio. Depois da esterilização os tubos foram inclinados 45° e armazenados em geladeira a 4°C.

Componentes do meio BDA

Batatas descascadas e fatiadas.....	200g
Ágar.....	20g
Dextrose.....	20g
Água destilada e esterilizada.....	1000ml

4.5. Concentração dos tratamentos

T1 - Testemunha- BDA

T2- 1% ⇒ 2,4ml de extrato bruto vegetal para 240ml de BDA

T3- 5% ⇒ 12ml de extrato bruto vegetal para 240ml de BDA

T4- 10% ⇒ 24ml de extrato bruto vegetal para 240ml de BDA

T5- 15% ⇒ 36ml de extrato bruto vegetal para 240ml de BDA

T6- 20% ⇒ 48ml de extrato bruto vegetal para 240ml de BDA

T7- 25% ⇒ 60ml de extrato bruto vegetal para 240ml de BDA

4.6. Plaqueamento e inoculação dos meios

O meio de cultura (BDA) foi distribuído em placas de Petri, na quantidade de 20 ml por placa, à temperatura de 45°C. Após o resfriamento, em condições assépticas, foram transferidos para o centro de cada placa 4 discos de ágar contendo estruturas do patógeno. As melhores colônias foram selecionadas para a inoculação dos 6 diferentes tratamentos contendo extrato vegetal nas concentrações de 1%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25% em meio BDA. O pH foi ajustado para 5,8.

A testemunha foi representada pelo tratamento sem o extrato, isto é, disco de micélio + BDA.

4.7. Incubação das placas

As placas foram incubadas em ambiente de laboratório de 25-26°C, em regime de alternância luminosa (12 h claro/12 h escuro), pelo período de 192 horas.

4.8. Determinação do crescimento dos isolados

As leituras de crescimento diário dos isolados nos diversos tratamentos foram feitas com o auxílio de régua milimetrada, em diâmetro opostos, estabelecendo-se uma média de crescimento para cada repetição, a partir do disco de inóculo de 5 mm de diâmetro.

Após 192 horas de incubação, foi feita a leitura final para o crescimento, e os 7 tratamentos, testados para cada um dos isolados nas 4 repetições, foram submetidos a análise estatística, aplicando o delineamento inteiramente casualizado, e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, para efeito da concentração do extrato bruto da planta no meio (extrato x isolados), no crescimento do fungo obteve-se também o índice de inibição pela fórmula “ $(T2R1 \times 100)/T1R1 = y$ de crescimento”, “% de inibição = $100 - y$ de crescimento” e a taxa de crescimento diária nos diversos tratamentos, no decorrer do período de incubação. No final do período de incubação as placas de Petri foram abertas e as colônias representando os tratamentos foram identificadas e fotografadas. O significado das variáveis da fórmula são:

T = tratamento;

R = repetição;

y = porcentagem de crescimento.

4.9. Determinação da esporulação

A determinação da esporulação foi feita ao final do período de incubação, através da média da estimativa do número de conídios nos dois campos da câmara de Neubauer.

Adicionou-se a cada placa contendo a colônia do fungo, 20 ml de uma suspensão de água estéril de Tween-80, na proporção de uma gota do espalhante para cada 100 ml de água destilada e esterilizada. O espalhante confere melhor distribuição e consequentemente melhor uniformidade dos conídios nas áreas de contagem da câmara de Neubauer. A seguir foi feita a raspagem superficial da colônia com pincel de pêlos finos, e o material obtido foi filtrado em gaze dupla esterilizada. A partir da suspensão de conídios obtida foi determinada a esporulação mediante o emprego da câmara de Neubauer sob objetiva de 40X de microscópio composto. As médias do número de conídios nas duas áreas de leituras foram obtidas para cada repetição, e posteriormente para os tratamentos. Obteve-se assim a estimativa do número de conídios/ml para cada tratamento. Os dados de esporulação foram transformados em $\sqrt{x+1}$, para efeito de análise estatística.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Crescimento e inibição de *C. gloeosporioides*

Os resultados médios obtidos para crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides*, nas diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., e para cada um dos três isolados e para todos os intervalos do período de incubação, encontram-se nas tabelas 1, 2 e 3, respectivamente. Estas demonstram que nenhum dos três isolados foi capaz de crescer na concentração de 25% de extrato bruto no meio. Os isolados de seringueira e de mangueira cresceram até a concentração de 15% de extrato no meio, enquanto o isolado de cajueiro cresceu até a concentração de 20%.

Apesar do isolado de cajueiro ter apresentado menor crescimento na testemunha, em relação aos outros dois isolados, foi ele que apresentou maior crescimento na concentração de 15% do extrato, no final do período de incubação. Isto demonstra que para o crescimento, o isolado de cajueiro foi o menos sensível ao extrato bruto de *M. charantia* L., para *C. gloeosporioides*.

Tabela 1. Médias para efeito de crescimento micelial (mm), de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado seringueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L. Manaus – AM, 1998.

Período de incubação	Tratamentos						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
24 Horas	2,25	1,25	0	0	0	0	0
48 Horas	15,50	9,38	3,63	2,38	0	0	0
72 Horas	28,28	17,00	8,00	6,13	2,25	0	0
96 Horas	39,88	25,88	13,00	10,88	4,75	0	0
120 Horas	49,13	34,50	18,00	15,75	7,25	0	0
144 Horas	55,50	41,75	22,38	20,00	9,38	0	0
168 Horas	61,88	49,25	27,63	25,38	12,38	0	0
192 Horas	65,75	54,50	32,63	30,25	15,63	0	0

De acordo com os resultados da tabela 1, o isolado de seringueira de *C. gloeosporioides* cresceu nas concentrações de 1%, 5%, 10% e 15%. Nas concentrações de 20 e 25% não houve crescimento. Após 24 horas de incubação, o fungo cresceu apenas na concentração de 1%. *C. gloeosporioides* apresentou crescimento decrescente à medida que a concentração de extrato bruto no meio foi aumentando, evidenciando efeito inibitório do extrato da planta.

Tabela 2. Médias para efeito de crescimento micelial (mm), de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado cajueiro), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L. Manaus – AM, 1998.

Período de incubação	Tratamentos						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
24 Horas	3,38	2,63	3,00	2,50	1,13	0	0
48 Horas	10,00	9,50	8,00	6,25	6,00	2,25	0
72 Horas	16,13	14,25	12,38	9,25	6,13	4,63	0
96 Horas	22,88	18,63	17,38	12,13	9,55	6,25	0
120 Horas	28,00	22,38	21,88	15,38	12,25	8,38	0
144 Horas	32,75	26,25	27,63	18,00	14,63	10,13	0
168 Horas	36,50	29,00	35,25	20,38	17,00	12,25	0
192 Horas	41,13	32,00	40,32	22,88	19,25	14,38	0

Na tabela 2, o isolado de cajueiro de *C. gloeosporioides* cresceu até a concentração de 20% do extrato bruto no meio. Na concentração de 25%, não houve crescimento do fungo em todos os intervalos de tempo testados. Estes resultados indicam que o isolado de *C. gloeosporioides* foi o único que cresceu até a concentração de 20% diferente dos demais. Fica evidenciado também, que a partir de 144 horas de incubação, o *C. gloeosporioides* cresceu mais na concentração de 5% do extrato do que na de 1%, sendo este o único caso em que o crescimento do fungo não decresceu com o aumento da concentração de extrato.

Tabela 3. Médias para efeito de crescimento micelial (mm), de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado mangueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L. Manaus – AM, 1998.

Período de incubação	Tratamentos						
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
24 Horas	6,13	4,75	2,63	2,13	0,75	0	0
48 Horas	17,38	10,13	7,25	5,00	1,25	0	0
72 Horas	28,75	16,88	12,13	8,88	3,75	0	0
96 Horas	41,25	22,5	17,13	13,25	6,13	0	0
120 Horas	52,38	31,75	21,88	17,63	8,00	0	0
144 Horas	62,63	38,25	26,63	21,88	10,75	0	0
168 Horas	73,00	44,50	31,63	26,88	13,50	0	0
192 Horas	80,00	50,25	36,00	31,13	16,00	0	0

A tabela 3, mostra que o *C. gloeosporioides*, isolado de mangueira, só foi capaz de crescer até a concentração de 15% do extrato bruto no meio, resultado semelhante ao obtido para o isolado de seringueira

Os resultados para taxas médias de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* em todos os intervalos do período de incubação podem ser melhor visualizados nas figuras 1, 2 e 3.

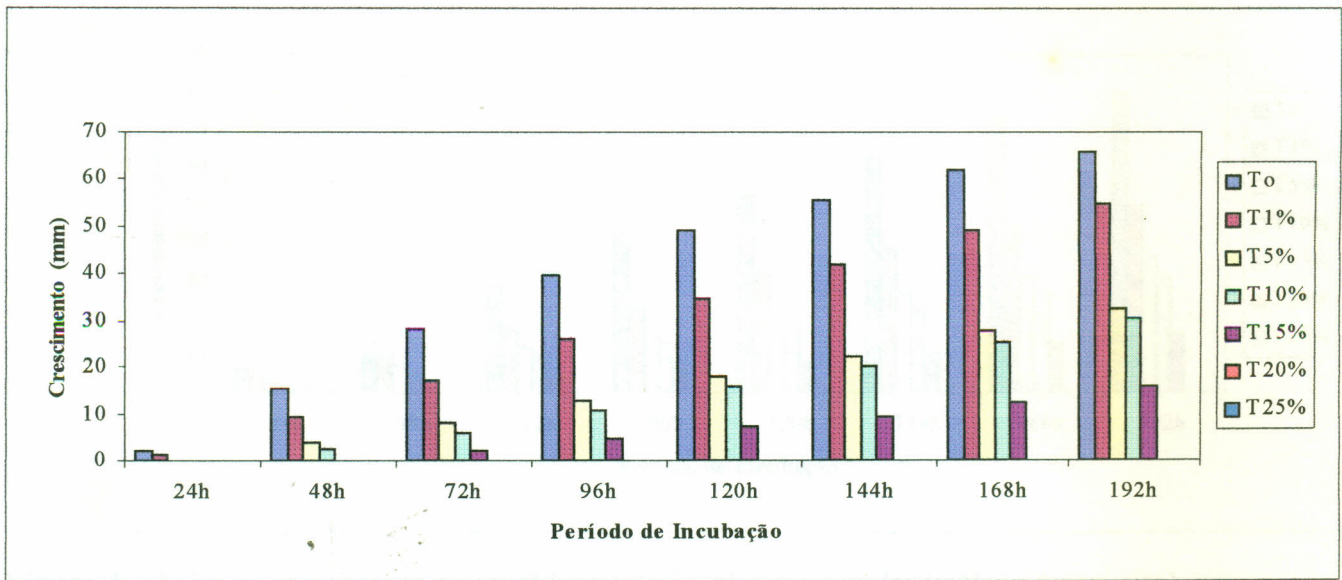


Figura 1. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado seringueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L. Manaus – AM, 1998.

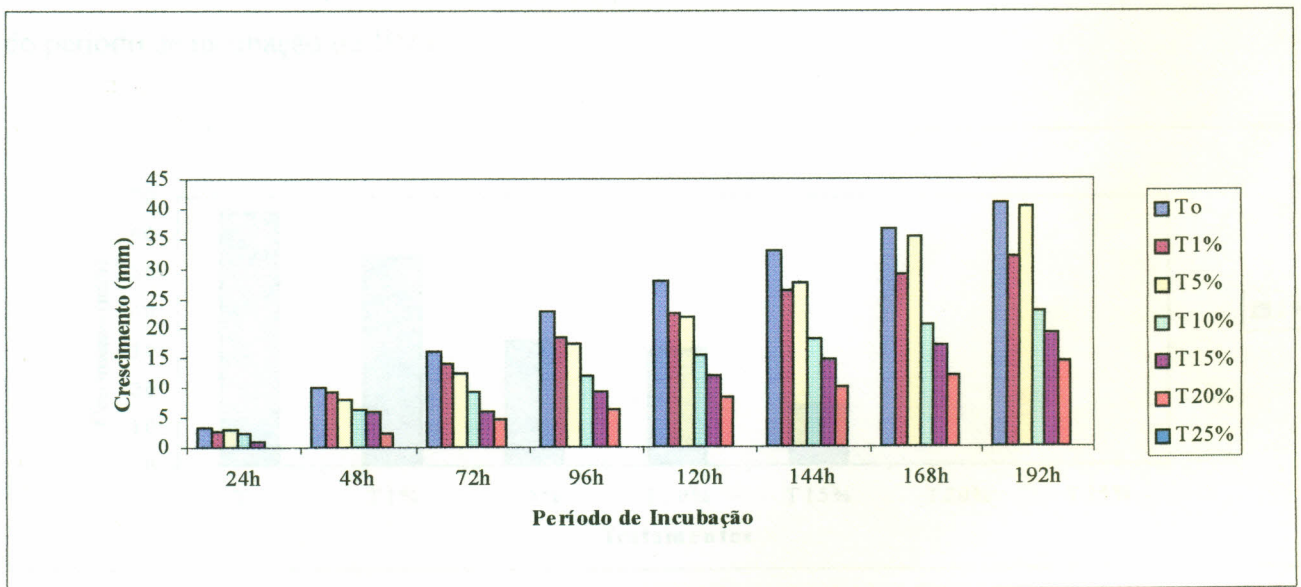


Figura 2. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado cajueiro), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L. Manaus – AM, 1998.

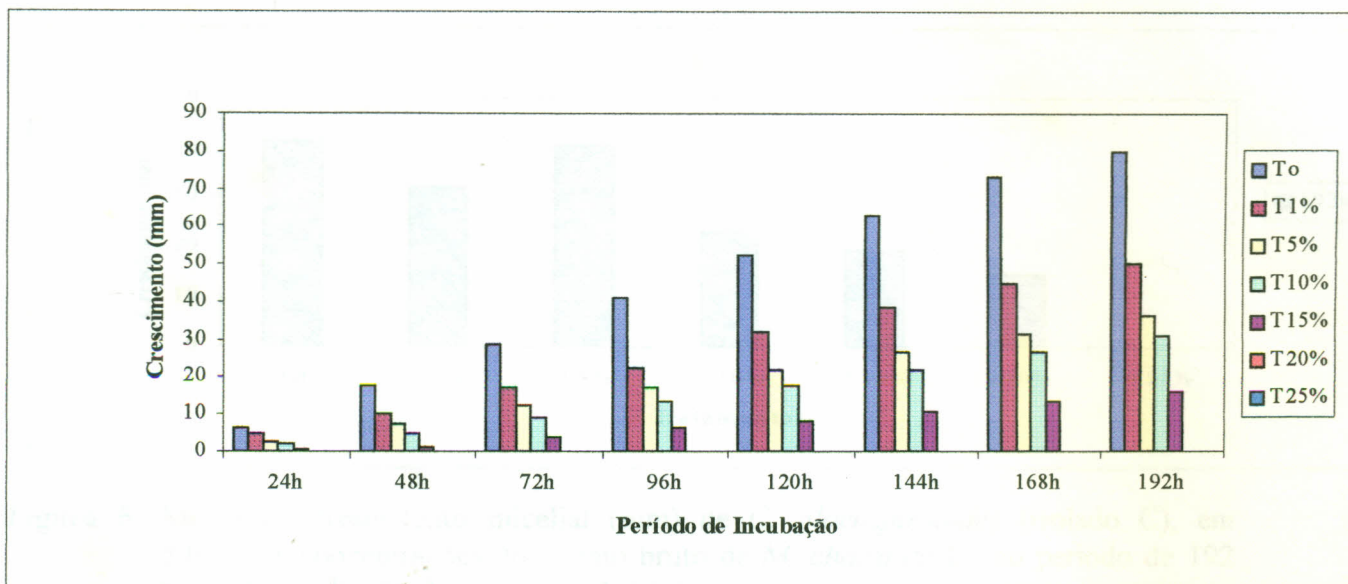


Figura 3. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado mangueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L. Manaus – AM, 1998.

As figuras 4, 5 e 6 mostram o crescimento médio (mm) de *C. gloeosporioides* nas diferentes concentrações do extrato bruto, para cada um dos três isolados testados, no final do período de incubação de 192 h.

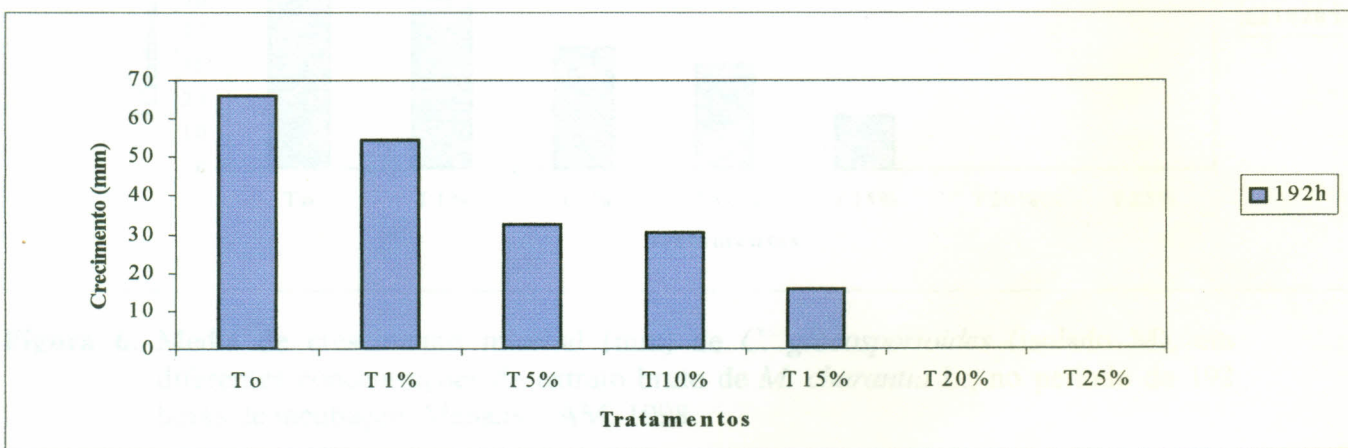


Figura 4. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado S), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

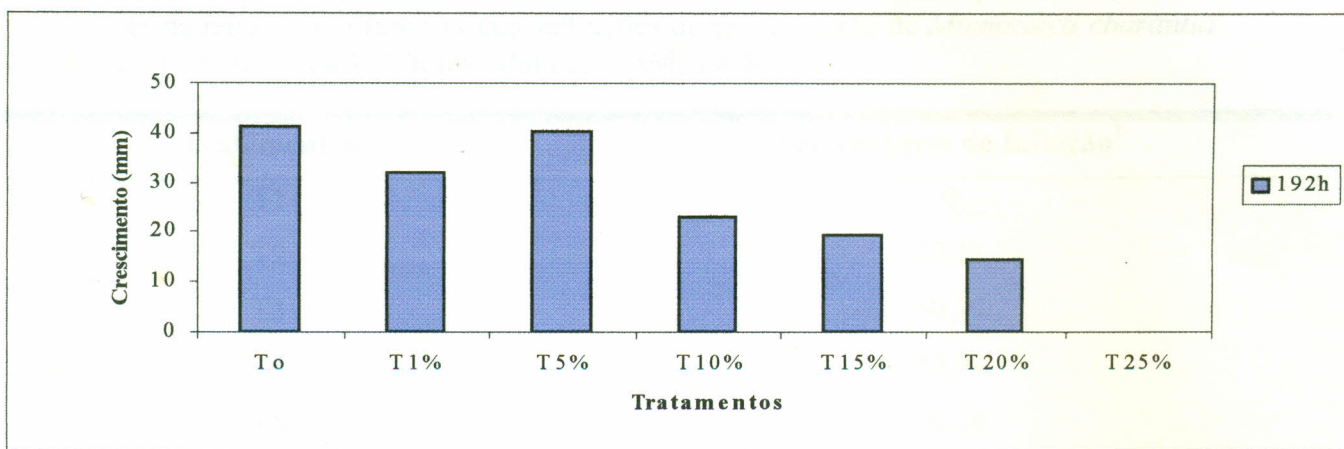


Figura 5. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado C), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

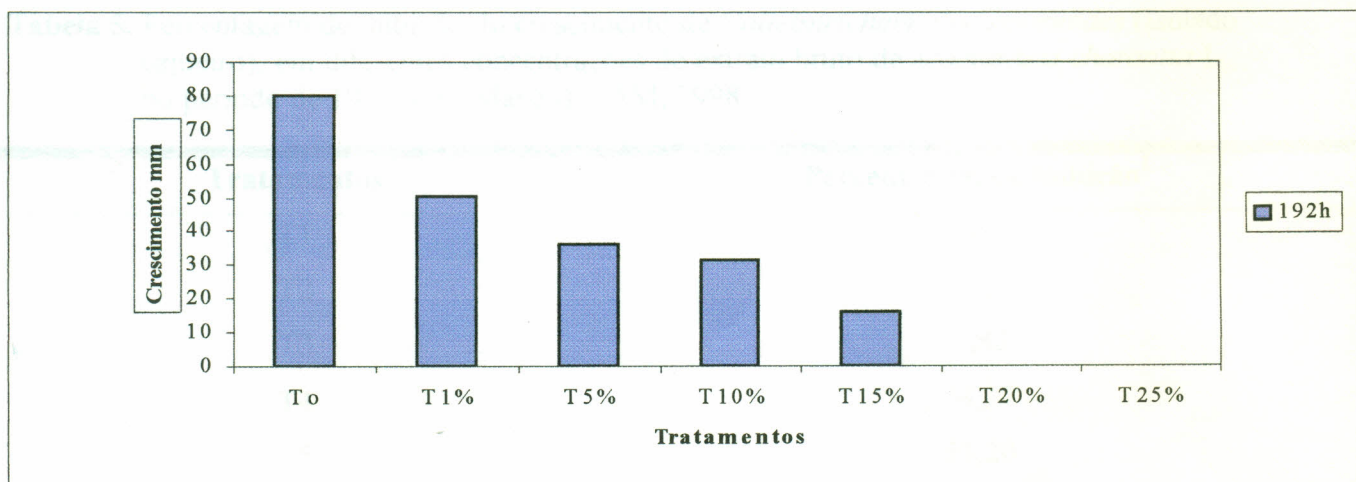


Figura 6. Média de crescimento micelial (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado M), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

Os resultados para inibição de crescimento percentual (%) de *C. gloeosporioides* no final de 192 horas de incubação, encontram-se nas tabelas .4, 5 e 6.

Tabela 4. Percentagem de inibição do crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado seringueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Percentagem de Inibição ¹
T1	0
T2	17,11
T3	50,37
T4	53,99
T5	76,26
T6	100,00
T7	100,00

¹Médias de 4 repetições

Tabela 5. Percentagem de inibição do crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado cajueiro), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Percentagem de Inibição ¹
T1	0
T2	22,20
T3	1,82
T4	44,37
T5	53,20
T6	65,04
T7	100,00

¹Médias de 4 repetições

Tabela 6. Percentagem de inibição do crescimento de *Colletotrichum gloeosporioides* (Isolado mangueira), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Percentagem de Inibição ¹
T1	0
T2	37,19
T3	55,00
T4	61,09
T5	80,00
T6	100,00
T7	100,00

¹Médias de 4 repetições

Os resultados para inibição indicam que houve inibição crescente de *C. gloeosporioides* à medida que o percentual de concentração do extrato no meio aumentou, alcançando índices de até 100% de inibição, na concentração de 25%, para os três isolados, e também de 100% na concentração de 20% para os isolados de seringueira e mangueira. A única exceção foi para o isolado de caju, na concentração de 5% de extrato vegetal, onde se verificou que o fungo cresceu mais que na concentração de 1%. A inibição do crescimento, medida pela percentagem de inibição, foi relativamente menor para o isolado de caju, visto que o extrato bruto vegetal não inibiu o fungo até a concentração de 20%, ao contrário dos isolados de seringueira e mangueira, que só conseguiram crescer até a concentração de 15% do extrato no meio de cultura.

Os percentuais de inibição para cada isolado nas diversas concentrações podem ser melhor visualizados nas figuras 7, 8 e 9.

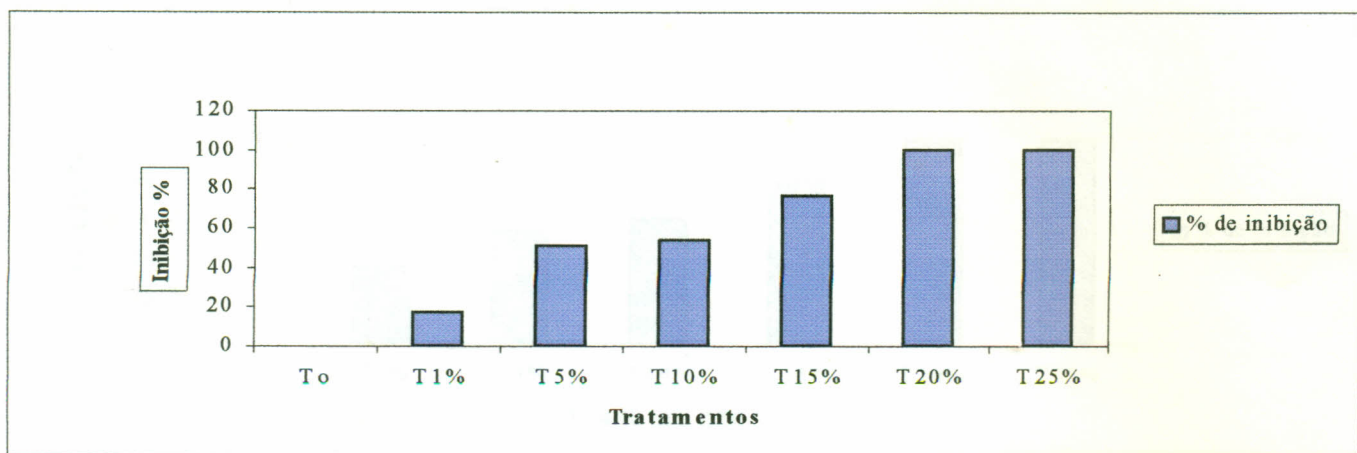


Figura 7. Percentagem de inibição de crescimento de *C. gloeosporioides* (isolado S), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

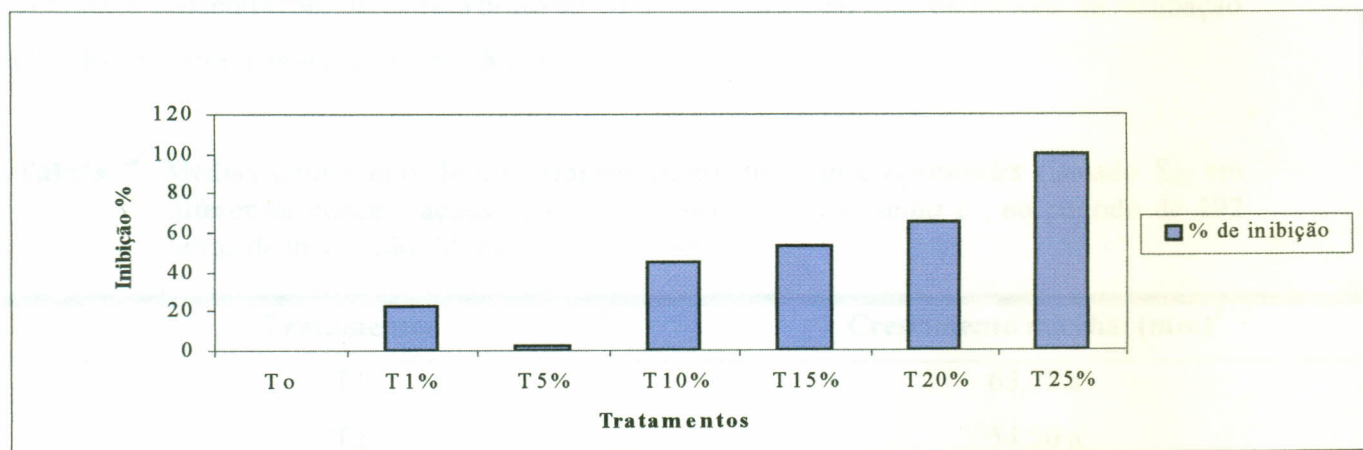


Figura 8. Percentagem de inibição de crescimento de *C. gloeosporioides* (isolado C), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

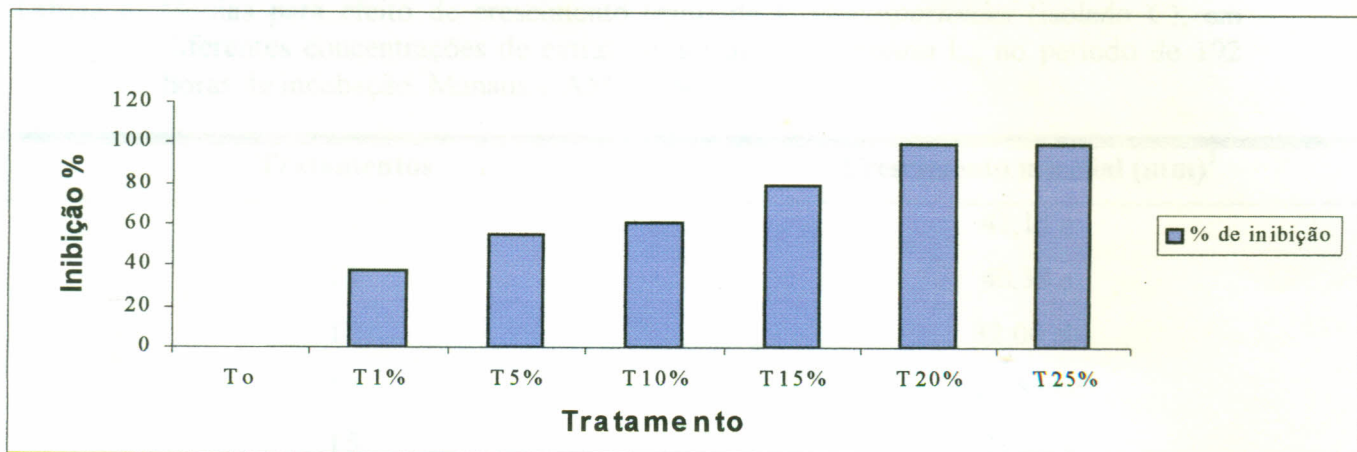


Figura 9. Percentagem de inibição de crescimento de *C. gloeosporioides* (isolado M), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

A médias para efeito de crescimento (mm) de *C. gloeosporioides*, em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no final do período de incubação (192 h) encontram-se nas tabelas 7, 8 e 9.

Tabela 7. Médias para efeito de crescimento (mm) de *C. gloeosporioides* (isolado S), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Crescimento micelial (mm) ¹
T1	65,75 a
T2	54,50 a
T3	32,63 b
T4	30,25 b
T5	15,63 c
T6	0,00 d
T7	0,00 d

DMS (5%) = 14,21

CV = 21,66

¹ Médias de quatro repetições.

* Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Tabela 8. Médias para efeito de crescimento (mm) de *C gloeosporioides* (isolado C), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Crescimento micelial (mm) ¹
T1	41,13 a
T3	40,38 a
T2	32,00 ab
T4	22,88 bc
T5	19,25 c
T6	14,38 c
T7	0,00 d

DMS (5%) = 12,41

CV = 22,13

¹ Médias de quatro repetições.

* Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Tabela 9. Médias para efeito de crescimento (mm) de *C gloeosporioides* (isolado M), em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Crescimento micelial (mm) ¹
T1	80,00 a
T2	50,25 b
T3	36,00 c
T4	31,13 c
T5	16,00 d
T6	0,00 e
T7	0,00 e

DMS (5%) = 8,42

CV = 11,96

¹ Médias de quatro repetições.

* Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem estatisticamente entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os resultados contidos na tabela 7, mostram que houve diferença significativa entre os tratamentos do isolado de seringueira. Os tratamentos T6 (20%) e T7 (25%), não diferiram entre si, e foram superiores aos demais no controle de *C. gloeosporioides*. O tratamento T2 (1%), não diferiu estatisticamente da testemunha (T1), porém, diferiu dos demais.

Os tratamentos T3 (5%) e T4 (10%), não diferiram estatisticamente entre si, e foram superiores aos tratamentos T1 e T2. O tratamento T5 (15%), diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, sendo superior aos tratamentos T1, T2, T3 e T4.

Para o isolado de *C. gloeosporioides*, da seringueira, o extrato bruto vegetal de *M. charantia* L., apresentou índice de 100% de controle “in vitro”, nas concentrações de 20 e 25% do extrato do meio de cultura, sendo superiores aos demais tratamentos, com concentração de extratos menores.

O extrato bruto vegetal na concentração de 15% no meio de cultura, foi mais efetivo no controle “in vitro” do *C. gloeosporioides*, do que os tratamentos com menores concentrações.

O extrato bruto vegetal de *M. charantia* L., nas concentrações de 5 e 10% no meio de cultura, não apresentou diferenças significativas no controle “in vitro” de *C. gloeosporioides*, porém, essas concentrações tiveram melhor efeito no controle do fungo em relação a testemunha e o extrato vegetal bruto na concentração de 1% no meio.

O extrato vegetal bruto de *M. charantia* L., na concentração de 1%, só foi superior a testemunha.

O controle de *C. gloeosporioides* “in vitro” foi proporcional ao aumento da concentração percentual do extrato bruto de *M. charantia* L. no meio, sendo que o fato de não ter havido diferença significativa entre a testemunha e o extrato bruto a 1%, representa que a concentração foi ineficiente no controle do fungo, uma vez que em concentrações maiores, de 5 e 10%, o controle foi eficiente.

Os resultados contidos na tabela 8, mostram que o tratamento T7, apresentou performar-se de redução de crescimento de 100%, sendo superior aos demais.

Os tratamentos T5 e T6, não diferiram entre si e foram superiores a T4, T3 e T2.

Os tratamentos T2 e T3 não diferiram estatisticamente do testemunha, contudo, o T2 não diferiu estatisticamente de T4.

Os tratamentos T2, T3, T4, T5, T6 e T7 tiveram efeito crescente com a concentração de extrato no controle do crescimento de *C. gloeosporioides*, exceto o tratamento T2 que apresentou maior redução do crescimento do fungo, embora não tenha em relação a T3, diferido estatisticamente deste.

Nas concentrações de 1 e 5% o extrato bruto não teve efeito no controle de *C. gloeosporioides*, levando em consideração que não houve diferença estatística na redução do crescimento, em relação a testemunha.

A partir do tratamento T4, o controle de *C. gloeosporioides*, pelo extrato bruto, já se mostrou eficiente, diferindo estatisticamente da testemunha.

O tratamento T7, foi o único que proporcionou 100% de redução no crescimento de *C. gloeosporioides*.

Os resultados contidos na tabela 9, mostram que todos os tratamentos T2, T3, T4, T5, T6 e T7, diferiram estatisticamente da testemunha, no entanto, os tratamentos T6 e T7, foram superiores aos demais e não diferiram estatisticamente entre si.

Os tratamentos T3 e T4 não diferiram estatisticamente entre si, o tratamento T5 diferiu estatisticamente dos demais tratamentos, sendo superior a T2, T3 e T4 e inferior a T6 e T7.

A redução do crescimento de *C. gloeosporioides*, isolado de mangueira, foi proporcional ao aumento de concentração de *M. charantia* L..

As concentrações de 20 e 25% do extrato bruto no meio de cultura, proporcionaram os melhores resultados de controle “in vitro” de *C. gloeosporioides*, apresentando uma taxa de 100% na redução do crescimento micelial do patógeno.

Utilizando a testemunha como padrão, todas as concentrações de extrato bruto testadas, tiveram efeito na redução do crescimento do *C. gloeosporioides*.

Entre as concentrações de 5 e 10% do extrato bruto de *M. charantia* L., não se verificou diferença significativa, na redução do crescimento do *C. gloeosporioides*.

5.2. Esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*

Os resultados médios obtidos para a esporulação de *C. gloeosporioides*, nas diferentes concentrações de *M. charantia* L., no período de 192h de incubação, encontra-se nas tabelas 10, 11 e 12 respectivamente.

Tabela 10. Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (Isolado S), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Esporulação ¹
T1	1,00
T2	1,10
T3	1,00
T4	1,81
T5	1,31
T6	1,00
T7	1,00

¹Médias de 4 repetições

Os resultados da tabela 10, mostram que a concentração de 10% do extrato bruto no meio, propiciaram maior esporulação de *C. gloeosporioides*, seguido das concentrações de 1 e 15%.

Tabela 11. Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (Isolado C), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Esporulação ¹
T1	9,33
T2	5,73
T3	5,85
T4	3,59
T5	2,44
T6	2,47
T7	1,00

¹Médias de 4 repetições

Os resultados da tabela 11, demonstram que a testemunha proporcionou maior esporulação do patógeno, seguida das concentrações de extrato bruto de 1, 5, 10, 15 e 20%. A tabela mostra também que na concentração de 25% não houve esporulação.

Tabela 12. Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (Isolado M), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Esporulação ¹
T1	1,64
T2	1,41
T3	7,57
T4	8,81
T5	4,54
T6	1,00
T7	1,00

¹Médias de 4 repetições

Nos resultados da tabela 12, fica evidenciado que a concentração de 10% de extrato bruto no meio, propiciou maior esporulação, seguido das concentrações de 1, 5 e 15%, sendo que a esporulação na testemunha foi inferior a observada nas concentrações de 5, 10 e

15%. Os resultados mostram também que nas concentrações de 20 e 25%, não houve esporulação.

Os resultados podem ser melhor visualizados nas figuras 10, 11 e 12.

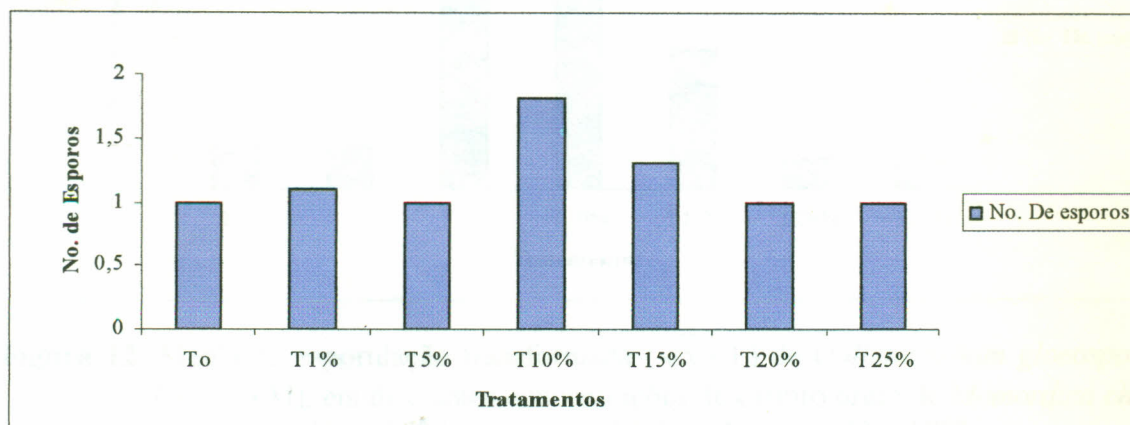


Figura 10. Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado S), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998..

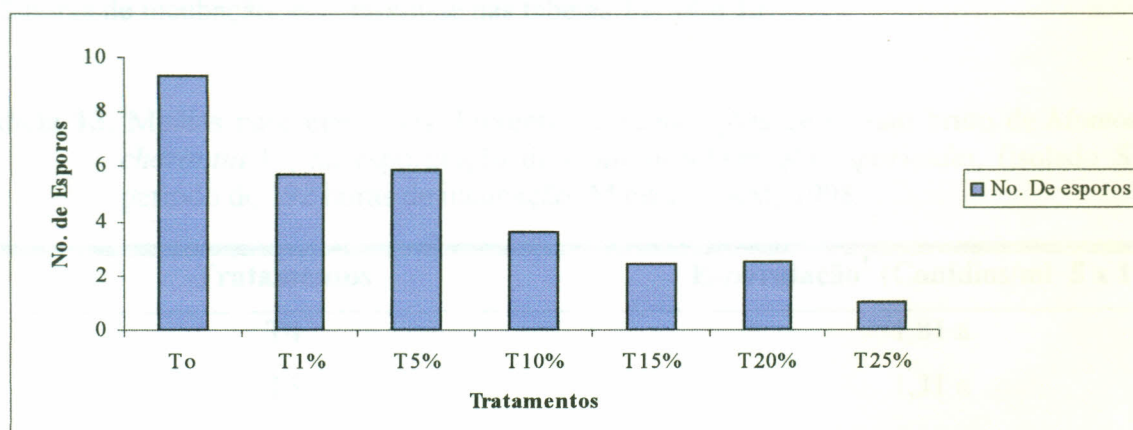


Figura 11. Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado C), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

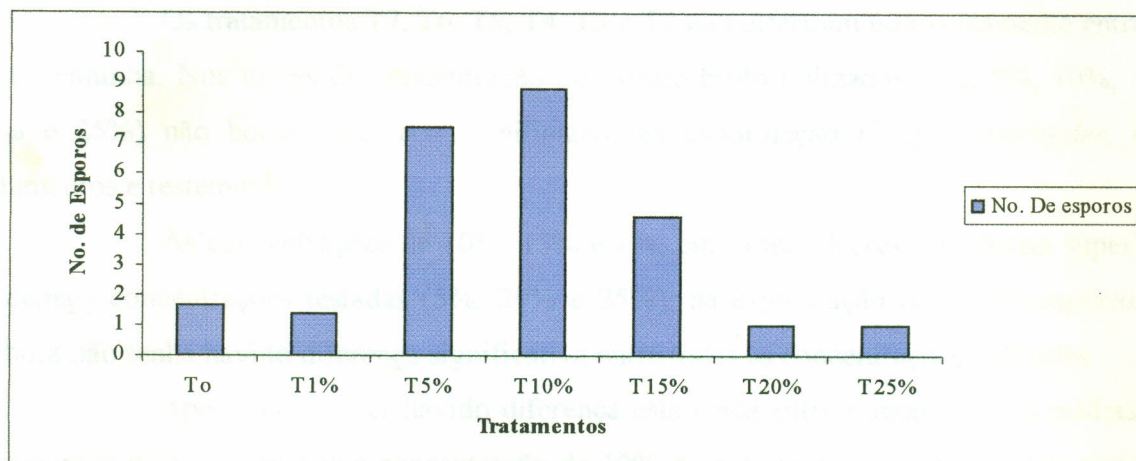


Figura 12. Média da esporulação transformada ($\sqrt{x+1}$) de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado M), em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

As médias para efeito da esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*, em diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., no final do período de 192 horas de incubação, encontram-se nas tabelas 13, 14 e 15.

Tabela 13. Médias para efeito das diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., na esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado S), no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Esporulação ¹ (Conídios/ml 5×10^4)
T4	1,81 a
T5	1,31 a
T2	1,10 a
T1	1,00 a
T3	1,00 a
T6	1,00 a
T7	1,00 a

DMS (5%) = 1,53

CV = 56,20%

¹ Médias de 4 repetições por tratamento.

* Médias seguidas da mesma letra na vertical não difere entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os tratamentos T7, T6, T5, T4, T3 e T2 não diferiram estatisticamente entre si e da testemunha. Nos níveis de concentração de extrato bruto utilizados (1%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25%) não houve diferença significativa na esporulação *C. gloeosporioides*, entre tratamentos e testemunha.

As concentrações de 10%, 15% e 1%, em ordem decrescente foram superiores as demais concentrações testadas (5%, 20% e 25%), na esporulação de *C. gloeosporioides*, embora não tenha havido diferença significativa entre todas as concentrações utilizadas.

Apesar de não ter havido diferença estatística entre tratamentos, as médias dos tratamentos demonstram que a concentração de 10% do extrato no meio apresentou o melhor resultado em termos de esporulação.

As concentrações de extrato bruto de 5%, 20% e 25% não permitiram esporulação de *C. gloeosporioides*, o mesmo acontecendo a testemunha.

A esporulação do *C. gloeosporioides*, não seguiu um padrão normal, em função da concentração do extrato. Nas concentrações onde não se observou o crescimento, obviamente o fungo também não esporolou. Porém, nas concentrações de 1%, 10% e 15% o fungo esporulou, tendo média superior na concentração de 10% de extrato no meio. Já para a testemunha e na concentração de 5% de extrato bruto no meio, não houve esporulação.

Tabela 14. Médias para efeito de diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L. na esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado C), no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Esporulação ¹ (Conídios/ml 5×10^4)
T1	9,32 a
T3	5,85 a
T2	5,73 a
T4	3,59 a
T6	2,47 a
T5	2,43 a
T7	1,00 a

DMS (5%) = 8,46
CV = 84,32%

¹ Médias de 4 repetições por tratamento.

* Médias seguidas da mesma letra na vertical não difere entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os tratamentos T2, T3, T4, T5, T6 e T7, não diferiram entre si e da testemunha. As concentrações de 5%, 1%, 10%, 20% e 15% em ordem decrescente, proporcionaram melhor esporulação de *C. gloeosporioides*, porém foram inferior a testemunha, apesar de não diferirem entre si.

Apesar de não ter diferido estatisticamente, a concentração de 25% não proporcionou esporulação de *C. gloeosporioides*.

A melhor esporulação foi obtida na testemunha, sem a presença do extrato bruto de *M. charantia* L., apesar de não diferir estatisticamente dos tratamentos com extrato bruto de *M. charantia* L.

O patógeno esporulou melhor no meio BDA sem extrato bruto de *M. charantia*.

A concentração de 5% de extrato bruto no meio propiciou a melhor esporulação, depois da testemunha, mesmo não tendo diferido estatisticamente das demais concentrações testadas.

O melhor resultado em termos de inibição da esporulação de *C. gloeosporioides* foi obtida na concentração de 25% em consequência da inibição total do crescimento do fungo.

Tabela 15. Médias para efeito das diferentes concentrações de extrato bruto de *Momordica charantia* L., na esporulação de *Colletotrichum gloeosporioides*, (isolado M), no período de 192 horas de incubação. Manaus – AM, 1998.

Tratamentos	Esporulação ¹ (Conídios/ml 5×10^4)
T4	8,80 a
T3	7,57 a
T5	4,54 a
T1	1,64 a
T2	1,41 a
T6	1,00 b
T7	1,00 b

DMS (5%) = 7,68

CV = 89,65%

¹ Médias de 4 repetições por tratamento.

* Médias seguidas da mesma letra na vertical não difere entre si ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

Os tratamentos T6 e T7 não diferiram entre si, e foram superiores aos demais, inclusive a testemunha, propiciando taxa de inibição de 100% na esporulação de *C. gloeosporioides*.

Os tratamentos T4, T3, T5 e T2 não diferiram estatisticamente entre si e nem da testemunha. As concentrações de extrato bruto de T2, T5, T3 e T4, na ordem, foram mais eficazes na inibição da esporulação de *C. gloeosporioides*, embora a concentração de 1% tenha ficado abaixo da testemunha. Os melhores índices de inibição foram observados nas concentrações de 20% e 25% de extrato bruto no meio. A concentração de 10% do extrato permitiu maior esporulação do patógeno, conseqüentemente pior desempenho na inibição da fase reprodutiva de *C. gloeosporioides*.

Houve maior esporulação na testemunha em relação a concentração de 1% de extrato bruto, porém menor esporulação em relação as concentrações de 5%, 10% e 15% do extrato bruto no meio.

A efetividade de um extrato de planta no controle de fitopatógenos depende das substâncias fungistáticas/fungicidas contidas neste extrato, dos extratores utilizados, da concentração do extrato, de condições do meio e, principalmente, da habilidade do patógeno em produzir substâncias como enzimas, que poderão inativar os princípios tóxicos contidos no

extrato. Acredita-se que as concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L. utilizadas poderiam ter melhor efeito na inibição do crescimento de *C. gloeosporioides* se a solução matriz estivesse mais concentrada, isto é, com menor teor de água, que no caso funcionou como diluente dos possíveis princípios ativos antifúngicos, diminuindo assim, a eficiência do extrato como substância inibidora do fungo. *M. charantia* é uma planta da família Cucurbitaceae, caracterizada por possuir altos teores de água nas folhas e nos ramos, acima de 95%, e a eliminação desta poderia aumentar a eficiência de controle do patógeno. Por outro lado, *Colletotrichum gloeosporioides*, como também a maioria dos fungos, é capaz de produzir várias enzimas durante o seu processo de crescimento e reprodução. Essas enzimas são difundidas a partir das extremidades das hifas e desdobram vários substratos que, dessa forma, tornam-se disponíveis para absorção, podendo ser incorporados ao tecido vegetativo do fungo, uma vez que esses agentes são seres heterotróficos (COCHRANE, 1958). É possível que a variabilidade de *C. gloeosporioides*, evidenciada neste experimento através das diferenças entre isolados, em relação à capacidade de crescimento em diferentes concentrações do extrato bruto de *M. charantia*, esteja ligada à produção de enzimas específicas que atuariam nos princípios ativos, diminuindo sua eficiência.

Por outro lado, a substância extratora pode ter influência preponderante na eficiência do extrato no controle de patógenos. No experimento, a seleção do extrator não foi feita segundo testes preliminares de eficiência. O etanol foi utilizado como substância extratora, havendo dúvidas se esta substância seria a mais adequada para esse propósito. SADI *et al.* (1990) afirmam que há vários extratores, entre eles o etanol, o metanol, éter, acetona, acetato de etila, etc.

O isolado de cajueiro conseguiu crescer em quase todas as concentrações testadas, e a concentração de 25% do extrato bruto de *M. charantia* L. no meio, que inibiu o seu crescimento, parece ser muito alta, levando-se em consideração que os demais isolados (seringueira e mangueira) cresceram somente até a concentração de 15%. O fato pode ter sido ocasionado tanto pela baixa concentração do princípio ativo no extrato, como também, pela habilidade enzimática do patógeno, em especial, o isolado do cajueiro, em degradar as substâncias tóxicas contidas no extrato.

O meio de cultura utilizado no experimento pode ter influenciado o crescimento de *C. gloeosporioides*. Vários autores afirmam que o meio de cultura é essencial no crescimento dos fungos, pois, dependendo da sua composição e das relações entre seus constituintes, o fungo pode ter um desempenho menor ou maior (HAWKER, 1950). O mesmo

já não acontece em relação à esporulação, visto que os requisitos nutricionais para crescimento são diferentes dos requisitos para esporulação. O meio de cultura BDA, utilizado no experimento com diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia*, apresentou diferenças marcantes em termos de crescimento e esporulação nos três isolados de *Colletotrichum gloeosporioides* testados na testemunha, mostrando que a taxa de crescimento dos isolados em BDA é bastante variável. Isso pode ter influenciado na inibição do crescimento nas diferentes concentrações de extrato bruto, entre isolados revelando diferenças também nesse parâmetro. Em relação à testemunha (somente BDA), o isolado de mangueira apresentou melhor crescimento, seguido do isolado de seringueira e cajueiro.

Acredita-se que a esporulação não tenha sofrido tanto a influência dos fatores descritos para o crescimento. Isso porque a esporulação depende do crescimento do fungo, isto é, ele primeiro precisa desenvolver sua estrutura vegetativa para depois se reproduzir, sob estímulos diferentes. Nas últimas concentrações (20% e 25%), os isolados de seringueira e mangueira não esporularam possivelmente porque não houve crescimento. A esporulação em cajueiro foi diferente, havendo caso em que o extrato em maior concentração permitiu maior esporulação do fungo, como por exemplo, a concentração de 20% de extrato, que propiciou maior esporulação do que a concentração de 15%, revelando que o extrato teve pouco efeito sobre a reprodução do fungo.

5.3. Características culturais

Com relação às características culturais do patógeno, foram consideradas na descrição, o aspecto da colônia, tendo como base os parâmetros de superfície de contorno, cor do micélio (aéreo e submerso), pigmentação do meio, zonas concêntricas de esporulação, bordas, etc., conforme descrito no anexo.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nestes experimentos, nos permitem formular as seguintes conclusões:

O extrato bruto de *M. charantia* L. foi efetivo na inibição do crescimento de *C. gloeosporioides* Penz. em todas as concentrações testadas (1%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25%) sendo que nas duas últimas concentrações a taxa de inibição atingiu 100%, com exceção do isolado de cajueiro, que apresentou leve crescimento.

As respostas de *C. gloeosporioides* às diferentes concentrações de extrato no meio, em relação ao crescimento, tiveram resultados positivos com o aumento da concentração, exceto para um dos níveis de concentração num isolado de cajueiro.

O extrato bruto de *M. charantia* L. não apresentou efeitos consistentes em relação a esporulação de *C. gloeosporioides*, havendo variações que permitiram concluir que as condições ideais para a esporulação do fungo diferem totalmente daquelas para crescimento.

Algumas concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L. chegaram até a estimular a esporulação do patógeno, superando a testemunha, o que confirma efeito pouco significativo do extrato para esse parâmetro.

As taxas de inibição de crescimento do fungo pelo extrato bruto de *M. charantia* L. podem ser potencializadas, melhorando-se as técnicas de extração (seleção de extratores) e reduzindo-se o teor de água na solução.

A sensibilidade de *C. gloeosporioides* ao extrato bruto de *M. charantia* L. variou com os isolados (seringueira, cajueiro e mangueira) demonstrando haver variabilidade genética entre os isolados, quanto a capacidade/habilidade de crescimento em meio hostil.

O extrato bruto de *M. charantia* L. nas condições do experimento e pelo desempenho demonstrado na inibição "in vitro" de *M. charantia* L. apresenta potencial para ser usado no controle de antracnose, em pulverizações foliares.

Mais estudos comparativos sobre a eficiência de controle do extrato bruto devem ser realizados no laboratório e no campo, e se possível utilizando fungicidas para avaliação dos parâmetros de eficiência.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. 1988. Plant Pathology. Third Edition, Academic Press, New York, 803p.
- ALEXANDRE, M. A. V.; NORONHA, A. B.; VICENTE, M. 1987. Ação de inibidores sobre duas viroses do feijoeiro: Mosaico dourado e Mosaico de fumo "Stain" adaptado às leguminosas. **Fitopatologia brasileira**, v.12, n.13, p.202-205.
- ALEXOPOULOS, C.J. & MIMS, C.W. 1979. **Introductory Mycology**. John Wiley & Sons, New York, . 632p.
- ARX, J.A. 1974. von The genera of fungi sporulating in pure culture. J. Cramer, Vaduz, 315.
- ASHRAFUZZMAN, H. 1991. Antimicrobial properties of crude plant extracts against *Rhizoctonia solani*, *Xantomonas campestris* pv. *oryzae* and *Erwinia carotovora* in: INTERNATIONAL PLANT PROTECTION CONGRESS, 12., Rio de Janeiro, 4089p.
- BAKER, K. F. & COOK, R. J. 1974. Biological control of plant pathogens. San Francisco, Freeman. 433p.
- BALMER, E. 1980. Doenças da mangueira – *Mangifera indica* L. In: GALLI, F. (coord.); CARVALHO, P. de C.T. de; TOKESHI, H.; BALMER, E.; KIMATI, H.; CARDOSO, C.O.N.; SALGADO, C.L.; KRUGNER, T.L.; CARDOSO, E.J.B.N.; BERGAMIN FILHO, A. MANUAL DE FITOPATOLOGIA, v.II – Doenças das plantas cultivadas, Agronômica Ceres, São Paulo, 587p.

- BERGAMIN FILHO, A. & CARDOSO, C.O.N. Doenças da seringueira. In: GALLI, F (ed.); CARVALHO, P. de C.; TOKESHI, H.; BALMER, E.; KIMATI, H.; CARDOSO, C.O.N.; SALGADO, C.L.; KRUGNER, T.L.; CARDOSO, E.J.B.N.; BERGAMIN FILHO, A. 1980. MANUAL DE FITOPATOLOGIA – DOENÇAS DAS PLANTAS CULTIVAS, VOLUME II, Editora Agronômica Ceres, São Paulo, 587p.
- CAVALCANTE, R.D. 1981. As pragas e doença do cajueiro e como combatê-las. **Correio Agrícola**, v.11, p.300-5,
- CATARINO, V; GHINI, R; BETTIOL, W; SCRAMIN, S; ZAVATTI, L. M. S. 1990. Efeito de extratos de *Vernonia condensata* e *Tagetes minuta* sobre a germinação de UREDINOSPOROS de *Hemileia vastatrix*. In: WORKSHOP SOBRE PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS, 1; EMBRAPA - CNPDA, Jaguariuna, p. 31.
- CATARINO, v; GHINI, R; BETTIOL, W; ZAVATTI, L. M. S; SCRAMIN, S. 1990. Influência de extratos de folhas de *Tagetes minuta* e *Vernonia polyantes* no crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Botrytes cinera* e *Trichoderma* sp. In: WORKSHOP SOBRE PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS, 1; EMBRAPA - CNPDA, Jaguariuna, p. 31.
- CHALTON, S. M. & CARVALHO, V. D. de. 1987. Inibição do crescimento micelial de *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) através de tratamentos com extrato de alho e fungicida captafol. **Fitopatologia Brasileira**, 12 (3) : 232-33.
- _____. 1987. Efeito do extrato de óleo industrial de alho sobre o desenvolvimento de fungo. **Fitopatologia Brasileira**, 12 (3) : 234-35.
- COCHRANE, V.W. 1958. **Physiology of fungi** New York, John Wiley & Sons, 542p.
- COOK, R. J. & BAKER, K. F. 1989. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minn. 539p.
- COX, M.L. & IRWIN, J.A.G. 1988. Conidium and appressorium variation in Australian isolates of the *Colletotrichum gloeosporioides* group and closely related species. **Australian System**, v.1, p. 139-49.

- FERRACINI, V. L. & MELO, I. S. de.1990. Efeito de extratos de *Chenopodium ambrosoides* sobre *Sclerotium rolfsii*. In: WORKSHOP SOBRE PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS, 1., EMBRAPA - CNPDA, Jaguariuna, p. 54.
- GASPAROTTO, L.; FERREIRA, F.A.; LIMA, M.I.P.M.; PEREIRA, J.C. & SANTOS, A.F. dos.1990. **Enfermidades da seringueira no Brasil**. EMBRAPA/CPAA, Manaus, 169p.
- HAWKER, L.E.1950. **Physiology of fungi**. University of London, London,, 360p.
- KRANZ, J.; KLEMENT, Z.; SOLYMOSY, F.; VOROS, J.1978. **Methods in plant pathology**. New York, John Wiley & Sons, p. 119-23, 195-199.
- KULSHRESTHA, D.D.; MATHUR, S.B.; NEERGAARD, P. 1976. Identification of seed-borne species of *Colletotrichum*, Friesa, Copenhagen, 25p.
- MENEZES, M.1988. **Controle biológico de patógenos de plantas**. UFRPE/DEPA, Recife, 18p. (mimeografado).
- NETO, A.M.C.L.; SANTOS, C.H.S.F.; WANDERLEY, L.J.G.; WARUMBY, G.F.; FERRACI, V.L.1990.Utilização de extratos de plantas no controle de traça das crucíferas, *Plutella xylostella* (LEPIDOPTERA: PLUTELIDAE). In: WORKSHOP SOBRE PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS, 1; EMBRAPA – CNPDA, Jaguariuna, p.45.
- NORONHA, A.B; ALEXANDRE, M.A.V; DUARTE, L.M.L.; VICENTE, M.1990. Substâncias naturais como inibidoras da infecção viral em plantas. In: WORKSHOP SOBRE PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTRAS DANINHAS, 1; EMBRAPA – CNPDA, Jaguariuna, p.56.
- OGLE, H.J.; IRWIN, J.A.G.; CAMERON, D.F. **Biology of *Colletotrichum gloeosporioides* isoletes from tropical pasture legumes**.
- SADI, C. V. S; FERRACINI, V. L; FRIGHETO, R. T. S; ROBBS, C. F.1990. Influência de extratos vegetais no controle de fungos. In: WORKSHOP SOBRE PRODUTOS NATURAIS NO CONTROLE DE PRAGAS, DOENÇAS E PLANTAS DANINHAS, 1; EMBRAPA - CNPDA, Jaguariuna, p. 50.

- SUTTON, B.C.1980. **The Corlomycetes. Fungi imperfect with picnidia, acervuli and stromata.** Commonwealth Mycological Institute. Kew, 874p.
- VALARINI, P. J.; SADI, C. V.; MELO, I. S.; FRIGHUETO, R. T. S. & FERRACINI, V. L.1991. Inibition phytopathogens by extracts from higher plants. In: XII Internetal plant protection congress, Rio de Janeiro, Brazil - 11-16 august.
- VIEGAS, A.P.1979.**Dicionário de Fitopatologia e Micologia.** s.l. IAC/BRASCAN Nordeste/BND/SUDENE, p.49-53, 637-8.

Anexo 1.

Características culturais de *C. gloeosporioides*, em diferentes concentrações de extrato bruto de *M. charantia* L.

Tratamentos	Isolados	Descrição das características culturais da colônia
	Isolado de seringueira	Colônia de aspecto feltroso, castanho escura, com áreas escuras (setores) no centro e nas extremidades. As bordas são esfiapadas, e as extremidades no geral brancas. Micélio aéreo frouxo não apresentando área de esporulação. Micélio submerso escuro.
Testemunha (BDA)	Isolado de cajueiro	Colônia de aspecto aveludado, coloração vermelho-marrom, bordas esfiapadas. Micélio aéreo compacto, superfície do contorno livre, margem marrom esbranquiçada. Zona de esporulação em toda a superfície.
	Isolado de mangueira	Colônia compacta, ocupando toda a área da colônia, de coloração branco-acizentada, com centro escuro. Margem de contorno esfiapada. Micélio aéreo abundante e o submerso preto.
	Isolado de seringueira	Colônia de coloração cinza esbranquiçada, superfície de contorno esfiapada, bordas lisas, colônia com tamanho médio. Micélio aéreo escasso, micélio submerso escuro, sem pigmentação.
BDA + T1%	Isolado de cajueiro	Colônia pequena, de bordas irregulares, de coloração rosa-lilás, extremidade de contorno esfiapada meio extremamente pigmentado de vermelho. Micélio aéreo compacto, rosa em massa, e submerso marrom-escuro.
	Isolado de mangueira	Colônia média, de aspecto feltroso, esbranquiçada, homogênea, de centro mais escuro e bordas de

Tratamentos	Isolados	Descrição das características culturais da colônia
BDA + T1%		contornos esfiapadas. Faixa da extremidade mais escura, e faixa central clara. O micélio aéreo abundante na faixa clara; micélio submerso escuro, sem pigmentação do meio. Ponto de esporulação no círculo central menor da colônia.
	Isolado de seringueira	Colônias pequenas, de aspecto feltroso, coloração marrom-escuro, com maior intensidade no centro e bordas esbranquiçadas; em extremidade de contorno homogêneo, esfiapada, com micélio aéreo escasso; micélio submerso escuro, sem zonas concêntricas de esporulação nem pigmentação do meio.
BDA + T5%	Isolado de cajueiro	Colônias pequenas, de coloração rosa na faixa central, esbranquiçada nas extremidades. Extremidade de contorno esfiapada e homogênea. Micélio aéreo escasso; micélio submerso marrom-escuro, sem a presença de zonas de esporulação e sem pigmentação do meio.
	Isolado de mangueira	Colônias pequenas, de aspecto feltroso, de coloração cinza-escuro, com centro mais escuro e bordas esbranquiçadas, de contornos homogêneos, bordas esfiapadas. Micélio submerso escuro, sem pigmentação do meio e sem zonas concêntricas de esporulação.
BDA + T10%	Isolado de seringueira	Colônias pequenas, homogêneas, de aspecto feltroso, coloração marrom-acizentado, com centro mais escuro e bordas esfiapadas, mais claras. Micélio aéreo escasso; micélio submerso, marrom-escuro, sem pigmentação do meio e sem zonas concêntricas de esporulação.

Tratamentos	Isolados	Descrição das características culturais da colônia
BDA + T10%	Isolado de cajueiro	Colônias pequenas de aspecto homogêneo coriáceo, coloração rosa no centro e rosa-esbranquiçada nas bordas. Micélio aéreo escasso. Micélio submerso marrom-escuro, sem zonas concêntricas de esporulação e sem pigmentação do meio.
	Isolado de mangueira	Colônias pequenas, homogêneas, de aspecto feltroso, coloração escura, com bordas mais claras, extremidades de contorno esfiapada; micélio aéreo escasso, micélio submerso escuro, sem presença de zonas concêntricas de esporulação sem pigmentação do meio.
BDA + T15%	Isolado de seringueira	Colônia diminuta, homogênea, de aspecto feltroso, de coloração cinza a cinza-escuro, com faixa central mais escura, seguida por faixa cinza esbranquiçada e anel em círculo escuro, separando borda de contorno de coloração creme. Micélio aéreo denso; superfície de contorno lisa; micélio submerso de coloração escura, sem pigmentação do meio e sem zonas concêntricas de esporulação.
	Isolado de cajueiro	Colônias diminutas, homogêneas, de aspecto coriáceo, de coloração nitidamente rosa, mais pronunciado no centro. Superfície de contorno lisa, extremidade de bordas esfiapadas; micélio aéreo escasso e micélio submerso marrom-escuro; zonas concêntricas de esporulação ausentes, bem como pigmentação do meio.
	Isolado de mangueira	Colônia diminuta, homogêneas, de aspecto feltroso, coloração cinza-escuro, mais pronunciada na faixa central e mais clara nas proximidades das bordas.

Tratamentos	Isolados	Descrição das características culturais da colônia
BDA + T15%		Superfície de contorno lisa, extremidade de contorno esfiapada; micélio aéreo escasso; micélio submerso escuro, não apresentando pigmentação do meio e sem zonas concêntricas de esporulação.
	Isolado de seringueira	Não houve desenvolvimento de colônias (crescimento micelial).
BDA + T20%	Isolado de cajueiro	Colônia de crescimento diminuto, homogênea, aspecto coriáceo, de coloração nitidamente esbranquiçada; superfície de contorno lisa, extremidades das bordas esfiapadas; micélio aéreo escasso (quase inexistente); micélio submerso de coloração creme, sem zonas concêntricas de esporulação e sem pigmentação do meio.
	Isolado de mangueira	Não houve desenvolvimento de colônia (crescimento micelial).
BDA + T25%	Isolado de seringueira	Não houve desenvolvimento de colônia (crescimento micelial).
	Isolado de cajueiro	Não houve desenvolvimento de colônia (crescimento micelial).
	Isolado de mangueira	Não houve desenvolvimento de colônia (crescimento micelial).

Anexo 2.

Aspecto cultural da colônia de *Colletotrichum gloeosporioides* em diferentes concentrações de extrato de *Momordica charantia* L.

