



Revista Agrária Acadêmica

[Agrarian Academic Journal](#)

Volume 2 – Número 6 – Nov/Dez (2019)



doi: 10.32406/v2n62019/170-179/agrariacad

Frações e extratos vegetais no controle da antracnose em cebolinha (*Allium fistulosum* L.).
Fractions and plant extracts in anthracnose control of welsh onion (*Allium fistulosum* L.)

Ione Medeiros da Silva¹, [Ana Francisca Tibúrcia Amorim Ferreira e Ferreira](#) ¹, Alex-Sandra Farias de Almeida¹, [Jânia Lília da Silva Bentes](#) ^{1*}

¹ Universidade Federal do Amazonas – UFAM, Programa de Pós-Graduação em Agronomia Tropical. Av. Rodrigo Otávio, 6200, 69077-000. Manaus, AM, Brasil.

*Autor para correspondência: E-mail: jlbentes@ufam.edu.br

Resumo

A cebolinha (*Allium fistulosum* L.) é uma hortaliça amplamente consumida no Brasil e cultivada principalmente em pequenas propriedades onde se pratica a agricultura familiar. No Amazonas a antracnose, causada por espécies do gênero *Colletotrichum*, é uma das principais doenças que afeta o cultivo da cebolinha. O patógeno tem fácil disseminação e o controle eficiente é através do uso de fungicidas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o uso de extratos vegetais bruto e fracionados de *Picrolema sprucei*, *Piper marginatum*, *Croton cajucara*, no controle da doença *in vitro* e *in vivo*. Foram avaliados o índice de crescimento micelial (ICM) e porcentagem de inibição de esporulação (PIE), e a severidade da doença em planta na casa de vegetação. Os extratos das espécies *P. sprucei* e *P. marginatum* apresentaram efeito fungistático *in vitro* e na redução da severidade da doença *in vivo*, demonstrando potencial para uso no manejo alternativo da doença.

Palavras-chave: *Colletotrichum*, manejo alternativo, doença de planta

Abstract

Anthracnose disease, caused by species of the genus *Colletotrichum*, is the main disease of welsh onion (*Allium fistulosum* L.) in Brazil. The pathogen has easy spread and the efficient control is by the use of fungicides. The objective of this work was to evaluate the crude and fractionated plant extracts of *Picrolema sprucei*, *Piper marginatum* and *Croton cajucara*, in disease control. In *in vitro* assay were evaluated the mycelial growth index (ICM) and the percentages of sporulation inhibition (PIEI), and *in vivo* was evaluated the severity and the area under disease progress curve (AUDPC) was also calculated. In both assays, *P. sprucei* and *P. marginatum* had the best results with fungistatic effect and reduced disease severity, suggesting their use in alternative disease control.

Keywords: *Colletotrichum*, alternative management, plant disease

Introdução

A cebolinha (*Allium fistulosum* L.) é uma hortaliça anual utilizada como condimento *in natura* ou processada na indústria alimentícia (SCHMITT et al., 2016). A planta pertence à família Alliaceae, possui numerosas folhas fistulosas e cilíndricas, com comprimento que varia de 25 e 35 cm. Embora seja de origem asiática, a cebolinha é amplamente cultivada por pequenos produtores no Brasil, adaptando-se a uma ampla faixa de temperaturas, podendo ser plantada ao longo do ano (SOUZA et al., 2018).

Na região Amazônica a cebolinha é comercializada com outras hortaliças como o coentro (*Coriandum sativum* L.) e a chicória de caboclo (*Eryngium foetidum* L.), que em conjunto são utilizados como um dos principais temperos para a elaboração de pratos à base de peixes (SANTANA et al., 2016).

Apesar de apresentar uma alta adaptabilidade, a cultura pode ser afetada por diversas doenças de origem fúngica que limitam sua produção, dentre elas destacam-se a mancha púrpura (*Alternaria porri* (Ell.) Cif.), a queima das pontas (*Botrytis squamosa* J. Walker) e a antracnose (*Colletotrichum* spp.) considerada a mais severa doença para a cultura na região de Manaus-AM (24). No Amazonas foram relatadas três espécies do gênero *Colletotrichum* causando antracnose em cebolinha, *C. theobromicola*, *C. truncatum* e *C. spaethianum* (MATOS et al., 2017; Santana et al., 2016). Os sintomas consistem em lesões necróticas de coloração marrom que se estende ao comprimento das folhas, onde é possível observar a presença de acérvulos e massas de conídios do fungo (MATOS et al., 2017)

O manejo fitossanitário da doença é feito por meio de métodos culturais e uso de fungicidas recomendados para outras culturas, uma vez que não existe fungicida registrado para o controle desta doença em cebolinha (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2019).

Diversos estudos utilizando substâncias derivadas de extratos vegetais naturais e óleos essenciais vêm sendo realizados visando o controle de fitopatógenos, como alternativa ao uso de defensivos agrícolas sintéticos (CORDOVA-ALBORES et al., 2016), por possuírem compostos com propriedades fungicidas além de serem biodegradáveis e não induzir resistência microbiológica (ABED-ASHTIANE et al., 2018; AUSTIN, STEPHEN, 2018; CHOUDHUR et al., 2018).

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito dos extratos vegetais bruto e fracionado de caferana (*Pricolemma sprucei* Hook.f.), caapeba (*Piper marginatum* Jacq.), sacaca (*Croton cajucara* Benth.) no controle da antracnose em plantas de cebolinha.

Material e Métodos

Obtenção e cultivo do fitopatógeno

Os isolados de *Colletotrichum* sp. foram obtidos a partir de plantas de cebolinha naturalmente infectadas em áreas de cultivo nos municípios de Manaus (3°06'06" S/ e 60°01'29" W) e Iranduba (03°17'05" S/ e 60°11'10" W) no estado do Amazonas-Brasil. O isolamento foi realizado de forma indireta em placas de Petri contendo o meio de cultura BDA (200 g de batata, 20 g de Dextrose e 17 g de Ágar, para 1L). A partir de colônias crescidas durante sete dias, foram obtidas as culturas monospóricas (ALFENAS, MAFIA, 2016). Os isolados foram preservados de acordo com o método Castellani (CASTELLANI, 1967).

A identificação morfológica de *Colletotrichum* sp. foi baseada no tamanho e no formato de 50 conídios e 50 apressórios de 6 isolados, escolhidos aleatoriamente, a partir de colônias com 15 dias de crescimento. Lâminas semipermanentes foram montadas a partir de uma suspensão de esporos na concentração de 10^5 conídios.mL⁻¹ para cada isolado, e foram observadas em microscópio óptico Zeiss, sob objetiva de 40 vezes. Para os apressórios foram feitos microcultivos utilizando a metodologia proposta por Kern e Blevins (1999). Os valores referentes ao tamanho de conídios e apressórios observados foram comparados com a descrição das espécies de *Colletotrichum*, propostas por Damm et al. (2009).

Para a identificação em nível de espécie foram amplificadas as regiões genômicas parciais do espaçador interno transcrito do rDNA (ITS), gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH) e beta-tubulina (TUB2) (DAMM et al. 2009). O DNA genômico de cada isolado foi extraído utilizando o kit de extração da Zymo Research® seguindo as recomendações do fabricante. A concentração e a qualidade do DNA obtido foi determinada em espectrofotômetro (ND – 1000, Nanodrop) e em gel de agarose (0,8%), usando como referência o marcador de 50 pb (New England Biolabs). Os primers utilizados para as amplificações foram ITS3 e ITS4 para região ITS (WHITE et al, 1990), GDF1 e DR1 para GAPDH (GUERBER et al. 2003) e BT2Fd + BT4R para beta-tubulina (WOUDENBERG et al., 2009). A reação em cadeia de polimerase foi realizada de acordo com o protocolo do kit PuReTaq™ Ready-To-Go™ PCR beads (GE Healthcare®) e as condições de cada corrida foram feitas de acordo com as descritas por Damm et al. (2009). As reações de PCR foram verificadas em gel de agarose (1,5%) e as bandas foram comparadas com o marcador de peso molecular de 1kb DNA ladder (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA).

O sequenciamento Sanger foi realizado no Centro de Apoio Multidisciplinar (CAM) da UFAM (Universidade Federal do Amazonas), e a partir dos eletroferogramas foram geradas as sequências consenso com programa SeqAssem® (HEPPERLE, 2004). As sequências obtidas foram alinhadas no programa MEGA7 (KUMAR et al., 2016) em conjunto com as sequências representativas de cada grupo monofilético de acordo com Damm et al. (2009). Árvores filogenéticas foram construídas individualmente para cada gene e em conjunto usando o método de Máxima verossimilhança (ML), e a visualização das árvores filogenéticas foi feita com o software FigTree v1.4.3.

Obtenção dos extratos vegetais bruto e fracionados

Foram avaliados os extratos bruto aquoso e fracionado de folhas de caferana (*Pricolemma sprucei* Hook.f.), caapeba (*Piper marginatum* Jacq.), sacaca (*Croton cajucara* Benth). O material vegetal foi coletado no Campus Universitário da UFAM (latitude 3° 6' 0,8" S, longitude 59° 58' 26" W), no período da manhã. Foram selecionadas folhas sadias e sem danos visíveis. As amostras foram lavadas em água corrente e deixadas para secar em laboratório durante 24 horas, em seguida foram desidratadas em estufa de circulação de ar a 40° C, durante 48 horas. As folhas foram trituradas em liquidificador para a obtenção da amostra seca em pó. Foram confeccionadas exsiccatas e realizada a confirmação da identificação das plantas no Herbário da UFAM.

Para obtenção do extrato bruto aquoso (EBA), 100 gramas de pó seco de cada espécie foi misturado em 1000 mL de água destilada. A solução resultante foi mantida em repouso no escuro em temperatura de laboratório (± 26 °C) durante 48 horas. Após esse período a solução foi filtrada em gaze e em papel de filtro Whatman n°1, obtendo-se o EBA.

Para obtenção dos extratos vegetais fracionados (EVF) foram utilizados os solventes hexano (C₆H₁₄), acetato de etila (C₄H₈O₂) e metanol (CH₃OH) visando a obtenção de moléculas com diferentes polaridades. Foram utilizados 100 g de pó seco de cada espécie, macerado em 400 mL de n-hexano,

durante 48 h em capela de exaustão de gases, seguido de filtração em filtro Milipore® acoplado à bomba de vácuo. O filtrado foi armazenado em recipiente estéril envolto por papel alumínio. Ao resíduo remanescente foi adicionado 200 mL de hexano, durante 24 h, quando novamente foi filtrado. O mesmo procedimento foi repetido para os demais solventes, acetato de etila e metanol. As frações obtidas no estado líquido foram rotaevaporadas em rotaevaporador (Fisatom® 802), a 50 rpm à temperatura de 45° C, no Laboratório de Abertura de Amostra e Ensaios Químicos (LAEQ) da Central Analítica de Química da UFAM, obtendo-se as frações concentradas denominadas hexânica (FHex), acetato-etílica (FACeT) e metanólica (FMet).

Avaliação dos extratos vegetais *in vitro*

O extrato vegetal bruto (EBA) de cada espécie foi inicialmente esterilizado por filtração em filtro Milipore® utilizando membranas de 0,22µm de porosidade, em seguida foi incorporado ao meio BDA nas concentrações 10%, 20%, 30%, 40%, e 50% e distribuídos em placa de Petri de 9 cm de diâmetro. Após a solidificação do meio, 1 disco de micélio 0,5 cm do fitopatógeno foi depositado no centro de cada placa, as quais foram mantidas em BOD a ± 27 °C. O delineamento experimental foi inteiramente ao caso, em esquema fatorial 3x5 (três espécies vegetal e cinco doses) com 10 repetições, sendo cada placa de Petri uma unidade experimental. Como controle foram utilizadas placa contendo somente o meio de cultura BDA.

Os extratos fracionados (FHex, FACeT e FMet) de cada espécie vegetal, foram dissolvidos em dimetil sulfoxido (DMSO), e adicionados ao meio de cultura BDA a uma concentração de 5 mg.mL⁻¹. O experimento foi montado conforme descrito para o EBA. O delineamento experimental utilizado foi DIC, em esquema fatorial (3x3x5), sendo três espécies vegetais e 3 solventes com cinco repetições, sendo cada unidade experimental representada por uma placa de Petri. A testemunha foi constituída por placas contendo somente o meio de cultura BDA e placa contendo BDA acrescido de DMSO.

A avaliação do crescimento micelial foi realizada diariamente através das medidas do diâmetro das colônias com auxílio de paquímetro digital (Carbografite, 150 mm). Os experimentos foram finalizados quando um dos tratamentos atingiu a borda da placa. A porcentagem de inibição de crescimento micelial (PIC) foi calculada pela fórmula: $PIC = [(diâmetro da colônia da testemunha - diâmetro da colônia do tratamento) / diâmetro da colônia da testemunha] \times 100$ (2; 17).

A avaliação da esporulação do fungo foi realizada pela quantificação dos conídios em cada tratamento, após a finalização da avaliação do crescimento micelial, quando foram adicionados 20 mL de água destilada esterilizada, em cada placa de Petri para obtenção de uma suspensão de conídios e a quantificação foi realizada em câmara de Newbauer. A porcentagem de inibição da esporulação foi obtida pela fórmula: $PIE = [(esporulação da testemunha - esporulação do tratamento) / esporulação da testemunha] \times 100$ (17).

Os dados obtidos de PIC e PIE foram submetidos à análise de variância e a partir de resultado significativo para o teste F aplicou-se o teste de médias as diferenças entre as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade utilizando-se o programa Assstat 7.7 Beta.

Avaliação extrato bruto vegetal em casa de vegetação

O experimento foi realizado no Setor de Produção da Faculdade de Ciências Agrárias da UFAM. Sementes de cebolinha da cultivar “Todo Ano” (NEBUKA) japonesa, foram semeadas em bandejas de isopor com 128 células contendo o substrato comercial Vivatto slim plus®. Trinta dias após a semeadura, procedeu-se o desbaste e as melhores mudas foram transplantadas para copos de

plásticos com capacidade para 500 mL contendo substrato composto de terriço, 200 g.m² de calcário e 10 L.m² de cama de aviário.

Quando as plantas apresentaram cinco folhas definitivas, foram inoculadas por aspersão com uma suspensão de inóculo de *Colletotrichum* sp. na concentração de 10⁻⁵ conídios.mL⁻¹. e mantidas em câmara úmida durante 48 horas. Para as inoculações foi selecionado somente um isolado, com base na capacidade de esporulação.

Sete dias após a inoculação foi realizada a aplicação de 20 mL de EBA de cada espécie vegetal, na concentração de 50%.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos (cinco espécies vegetais) e cinco repetições, sendo cada unidade experimental constituída por três plantas. Como controle foram utilizadas plantas inoculadas com o patógeno e tratadas com água destilada esterilizada.

A avaliação da severidade foi realizada cada 48 horas de acordo com a escala diagramática descrita por Azevedo (1998), com cinco níveis de severidade: 1%, 5%, 20%, 50% e 80%. Foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) de acordo com fórmula de Campbell e Maden (1990): $AACPD = \sum [(I_i + I_{i+1})/2 \cdot (T_{i+1} - T_i)]$, onde y_i e y_{i+1} são os valores de crescimento da colônia observados em duas avaliações consecutivas, t_i o intervalo entre as avaliações e n a duração do período de avaliação. Foi realizada a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, utilizando-se o programa Assistat versão 7.7 Beta.

Resultados e discussão

Identificação morfológica e molecular de *Colletotrichum* sp.

Os isolados de *Colletotrichum* sp. obtidos de plantas de cebolinha apresentaram colônia com micélio de coloração branca a cinza, com centro de coloração alaranjada devido à presença de mucilagem, característica da produção de conídios do gênero (Figura 1A) e estruturas de coloração negra referente aos acérvulos, de onde surgiram os conídios hialinos, de formato falciforme, com um septo transversal medindo entre 15 a 20 µm de comprimento e 3,4 a 4,5 µm de largura (Figura 1B). Os apressórios foram visualizados solitários ou em grupos, com coloração marrom escuro devido a presença de melanina, e formato lobado ou irregular, medindo de 15,7 a 38,01 µm de comprimento e 7,05 a 28,4 µm de largura (Figura 1C).

Sequências parciais dos genes ITS, GAPDH e B-tubulina dos isolados UFAM Col 2, 3, 4, 5 e 6, revelaram identidade de 99 % para *Colletotrichum spaethianum* (Figura 1D). As sequências foram depositadas no GenBank sob número ITS: Col 2-MN495990; Col 3- MN495991; Col4 - MN495992; Col5- MN495993 e Col6- MN495994. GAPDH: Col2-MN508090; Col3- MN508091; Col4- MN508092; Col5- MN508093; Col6- MN508094. Tub2: Col2- MN508086; Col3- MN508085; Col4- MN508088; Col5- MN508087 e Col6- MN508089.

Esta espécie foi identificada causando antracnose em cebolinha no Amazonas por Santana et al. (2016), no entanto Matos et al. (2017) relataram mais duas outras espécies, *C. truncatum* e *C. theobromicola* associadas à antracnose em cebolinha no Estado, o que indica a ocorrência de um complexo de espécies causando antracnose nesta planta hospedeira.

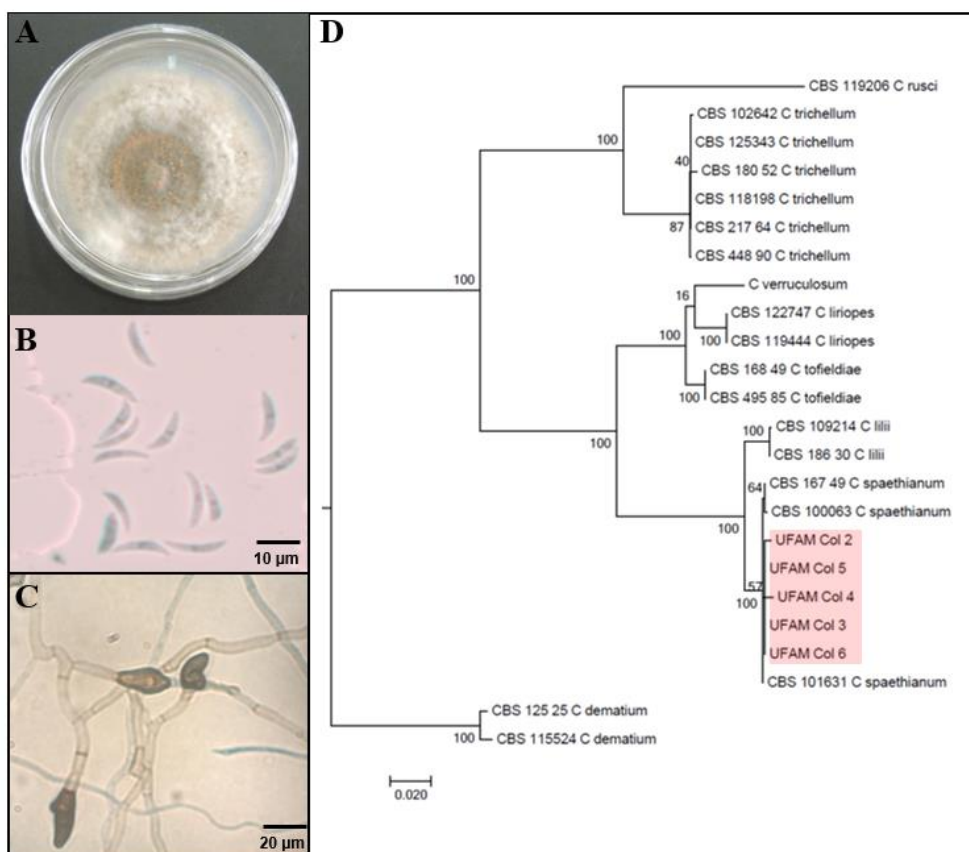


Figura 1 - Morfologia e identificação molecular de isolados de *Colletotrichum spaethianum*. A. Colônia do fungo em meio BDA. B. Conídios de formato falciforme. C. Apressórios melanizados. D. Árvore filogenética de Máxima verossimilhança das espécies de *Colletotrichum* sp. formada a partir da concatenação dos genes ITS, GAPDH e TUB2.

Experimento *in vitro*

Atividade inibitória do extrato bruto aquoso (EBA) no crescimento micelial e produção de conídios de *C. spaethianum*, foi obtida na concentração de 50% para as três espécies vegetais avaliadas. O menor índice de crescimento micelial (ICM) foi observado no tratamento com o extrato de *P. marginatum*, com 1,5 cm, seguido de *P. sprucei* com 1,7 cm e *C. cajucara* com 2,0cm. A maior porcentagem de inibição da esporulação (PIE) foi observada no tratamento com extrato de *P. sprucei* na dose de 50% (61,3%) e na dose de 40% com 57,7% de inibição, seguido de *P. marginatum* na dose de 40% com 43,5 % de PIE (Tabela 1).

Para os extratos vegetais fracionados (EVF) foi observada um estímulo no crescimento micelial, na fração metanólica (FMet), que apresentou os maiores valores de ICM (Tabela 1). No entanto uma elevada porcentagem de inibição da esporulação foi obtida na FMet de *P. sprucei*, com 97,9% de PIE, seguido pela fração hexânica (Fhex) de *C. cajucara* com 94,7% (Tabela 1)

A ação inibidora de *P. sprucei* pode ser devido a presença de quassinósídeos nos extratos da planta, que são metabólitos derivados da degradação de compostos triterpênicos, que são altamente oxigenados e apresentam uma ampla gama de atividades biológicas *in vitro* e/ou *in vivo* os quais já foram demonstrados para a espécie *Corynespora cassicola* (COSTA, 2018).

Extratos de espécies do gênero *Piper* tem sido testados contra diversos fitopatógenos *in vitro*, como *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora capsici*, *C. capsici*, *F. solani* e *R. solani* (RAHMAN et al., 2011). Araújo et al. (2014) avaliando o efeito de extratos de *P. marginatum* no controle da antracnose

em pimentão também encontraram resultados satisfatórios na inibição do crescimento micelial de *Colletotrichum scovillei*.

A prospecção fitoquímica indica que o gênero *Croton* apresenta em sua composição, alcaloides, flavonoides, triterpenoides e uma grande variedade estrutural de diterpenoides, os quais podem estar relacionados com essa atividade antimicrobiana a diversos microrganismos (URZÚA et al., 2008), como já observado para *C. zehntneri*, que possui atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, entre outros microrganismos (COSTA et al. 2008,).

Tabela 1. Índice de crescimento micelial (ICM) e porcentagem de inibição de esporulação (PIE) de *Colletotrichum spaethianum* cultivado em meio contendo diferentes concentrações de extrato bruto aquoso e fracionado de *Picrolema sprucei*, *Piper marginatum* e *Croton cajucara*.

Concentração (%)	Extrato Bruto Aquoso (EBA)					
	<i>Picrolema sprucei</i>		<i>Piper marginatum</i>		<i>Croton cajucara</i>	
	ICM (cm)	PIE (%)	ICM (cm)	PIE (%)	ICM (cm)	PIE (%)
0	3,5a	0 c	2,2 a	0 d	2,4a	0 d
10	2,9 b	21,5b	2,6 a	29,9c	2,1a	7,5c
20	2,8 b	18,4b	2,4 a	33,3b	2,1a	13,9b
30	3.0 b	19,3b	2,8 a	32,2b	2,3a	7,9c
40	1,9 c	57,7a	1,9 b	43,5a	2,3a	14,4b
50	1,7 c	61,3a	1,5 b	38,1b	2,0a	32,6a
CV (%)	14,9	14,5	14,9	26,4	9,53	13,8
Extrato Fracionado						
Fração Hexânica	3,9 b	69,6b	4,3b	37,8c	4,8b	94,7a
Fração Acetato-etílica	3,64b	48,2c	4,9b	75,2a	4,9b	83,5b
Fração Metanólica	5,2 a	97,9 a	6,05a	51,1b	5,6a	60,4c
BDA	3,5 b	0 d	2,2c	0 d	2,4c	0d
BDA+DMSO	2,9 c	0 d	2,6c	0 d	2,1 c	0d
CV (%)	13,7	2,6	13,7	2,7	13,7	2,6

*Valores seguidos de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Experimento *in vivo*

A avaliação da severidade da antracnose em plantas de cebolinha tratadas com os EBA's revelou que não houve diferença estatística entre os tratamentos, no entanto as plantas tratadas com os extratos de *P. marginatum* e *P. sprucei* apresentaram menor severidade da doença e AACPD. No tratamento com *C. cajucara* foi observado o aumento da intensidade da doença, em comparação com a testemunha (Tabela 2). A ação antifúngica proporcionada pela aplicação foliar do extrato vegetal de *P. marginatum* pode ser atribuída aos metabólitos secundários presentes no extrato vegetal, que podem estar atuando diretamente sobre o patógeno, como demonstrado nos experimentos *in vitro*, ou ainda ativando rotas metabólicas relacionadas à diferentes mecanismos de defesa da planta, levando à redução as severidade da doença. *P. sprucei* pertence à família Simarubaceae, que possui como

característica ser fonte de moléculas bioativas, como quassinóides, quassina e neoquassina consideradas promissoras para o controle microbiano (CLARKC, QUASSIM, 1937) as quais podem estar relacionadas com a redução da severidade da antracnose em plantas de cebolinha, observada neste estudo.

Tabela 2. Severidade da antracnose causada por *Colletotrichum spaethianum* e área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) em plantas de cebolinha tratadas com extrato bruto aquoso de *Picrolema sprucei*, *Piper marginatum*, *Croton cajucara*,

Espécie vegetal	Severidade (%)*	AACPD
<i>P. sprucei</i>	43,0a	154,0a
<i>P. marginatum</i>	38,5a	134,6a
<i>C. cajucara</i>	66,0a	230,1a
Testemunha	53,0a	185,5a
CV	41,07	39,44

*dados são a média de dois experimentos.

O uso de extratos vegetais de plantas superiores tropicais como controle alternativo de fitopatógenos constituem uma alternativa sustentável no manejo integrado de doenças. Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que as espécies vegetais *P. sprucei*, *P. marginatum*, *C. cajucara*, possuem potencial para uso como agentes inibidores da produção de conídios de *C. spaethianum*, devido a ação fungistática, observada nos ensaios *in vitro* desta pesquisa, o que pode ter um efeito na redução do inóculo do fungo no campo. Quanto a sua ação no controle da doença *in vivo*, as espécies *P. sprucei* e *P. marginatum* reduziram a severidade da doença, sugerindo o potencial como uma alternativa para o manejo integrado da antracnose em cebolinha.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq.

Referências bibliográficas

- ABED-ASHTIANI, F.; ARZANLOU, M.; NASEHI, A.; KADIR, J.; VADAMALAI, G.; AZADMARD-DAMIRCHI, S. Plant tonic, a plant-derived bioactive natural product, exhibits antifungal activity against rice blast disease. **Industrial Crops & Products**, v.112, p.105-112, 2018.
- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. **Métodos em Fitopatologia**. 2.ed. Viçosa: Editora UFV, 2016. v.1, 516p.
- ARAÚJO, E. R., HARAND, W., LIMA, I. C., DIAS, F. C. R., SANTANA, A. A. D. D., CARVALHO, R. R. D. C., & LARANJEIRA, D. Extracts of *Piper marginatum* and *Azadirachta indica* for the control of *Colletotrichum scovillei* in bell pepper. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.49, n.2, p.88-94, 2014.
- AUSTIN, O.A.; STEPHEN, G.T. Inhibitory potential of lime fruit (*Citrus aurantifolia*) bark extract on mycelial growth of *Colletotrichum falcatum*, causal organism of Sugarcane Red Rot Disease. **Microbiology Research Journal International**, v.24, n.4, p.1-5, 2018.
- AZEVEDO, L.A.S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: Novartis, 1998. 114p.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley & Sons, 532 p. 1990.

- CASTELLANI, A.A. Maintenance and cultivation of the common pathogenic fungi of man in sterile distilled water: further researches. **Journal of Tropical Medicine & Hygiene**, v.70, p.73-80, 1967.
- CHOUDHUR, Y. D.; DOBHAR, P.; SRIVASTAVA, S.; SAHA, S.; KUNDU, S. Role of botanical plant extracts to control plant pathogens - A review. **Indian Journal Agricultural Research**, v.52, n. 4, p.341-346, 2018.
- CLARK, E. P. QUASSIN. I. The preparation and purification of quassin and neoquassin, with information concerning their molecular formulas. **Journal of the American Chemical Society**, v.59, n.5, p.927-931, 1937.
- CORDOVA-ALBORES, L.C.; SANDOVAL ZAPOTITLA, E.; RÍOS, M.Y.; BARRERA-NECHA, L.L.; HERNÁNDEZ-LÓPEZ, M.; BAUTISTA-BAÑOS, S. Microscopic study of the morphology and metabolic activity of *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* treated with *Jatropha curcas* oil and derivatives. **Journal of Microscopy and Ultrastructure**, v.4, p.28-35, 2016.
- COSTA, J. D., RODRIGUES, F. F., ANGÉLICO, E. C., PEREIRA, C. K., SOUZA, E. O. D., CALDAS, G. F., SILVA, M. R., SANTOS, N. K. A., MOTA, M. L., SANTOS, P. F. D. Composição química e avaliação da atividade antibacteriana e toxicidade do óleo essencial de *Croton zehntneri* (variedade estragol). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p.583-586, 2008.
- COSTA, S.C.T. **Fungos endofíticos e extratos vegetais no controle alternativo da mancha-alvo do tomateiro**. 2018. 98p. Dissertação (Mestrado em Agronomia Tropical) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus.
- DAMM, U.; WOUDEBERG, J.H.C.; CANNON, P.F.; CROUS, P.W. *Colletotrichum* species with curved conidia from herbaceous hosts. **Fungal Diversity**. v.39, p.45-87, 2009.
- GUERBER, J.C.; LIU, B.; CORRELL, J.C. Characterization of diversity in *Colletotrichum acutatum* sensu lato by sequence analysis of two gene introns, tDNA and intron RFLPs, and mating compatibility. **Mycologia**, v.95, n.5, p.872-895, 2003.
- HEPPERLE, D. (2004): SeqAssem© A sequence analysis tool, contig assembler and trace data visualization tool for molecular sequences. Disponível em: <<http://www.sequentix.de>>. Acesso em: 22 jan 2019.
- KERN, M.E.; BLEVINS, K.S. **Micologia Médica**. 2ª Ed. São Paulo: Editora Premier, 1999, 256p.
- KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular Biology and Evolution**, v.33, n.7, p.1870-1874, 2016.
- MATOS, K.S.; HANADA, R.E.; SILVA, G.F.; SOUSA, N.R. First report of anthracnose on welsh onion (*Allium fistulosum* L.) in Brazil caused by *Colletotrichum theobromicola* and *C. truncatum*. **Plant Disease**, v.101, n.6, p.1055, 2017.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO: Agrofit 2019. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>. Acesso em: 20 jan 2019.
- RAHMAN, A., AL-REZA, S. M., & KANG, S. C. Antifungal activity of essential oil and extracts of *Piper chaba* hunter against phytopathogenic fungi. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.88, n.4, p.573-579, 2011.
- SANTANA, K.F.A.; GARCIA, C.B.; MATOS, K.S.; HANADA, R.E.; SILVA, G.F.; SOUSA, N.R. First report of anthracnose caused by *Colletotrichum spaethianum* on *Allium fistulosum* in Brazil. **Plant Disease**, v.100, n.1, p.224-225, 2016.
- SCHMITT, O.J.; ANDRIOLO, J.L.; LERNER, M.A.; SOUZA, J.M.; PICIO, M.D.; MAMBRI, A.P. Consórcio de salsa e cebolinha para produção de maços comerciais mistos de cheiro-verde. **Horticultura brasileira**, v.34, n.1, p.114-120, 2016.

SOUZA, A.G.; CARVALHO, J.; ANAMI, J.M. Refrigeração e ácido ascórbico na conservação de cebolinha-verde minimamente processada. **Agropecuária Catarinense**, v.31, n.2, p.58-62, 2018.

URZÚA, A. et.al. A structure-activity study of antibacterial diterpenoids. **Molecules**, v.13, p.882-891, 2008.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A.; GELFAND, D.H.; SNINSKY, J.J.; WHITE, T.J. (Eds), PCR protocols: a guide to methods and applications. **Academic Press**. p.315-322, 1990.

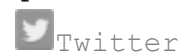
WOUDEBERG, J.H.C.; AVESKAMP, M.M.; GRUYTER, J.DE.; SPIERS, A.G.; CROUS, P.W. Multiple *Didymella* teleomorphs are linked to the *Phoma clematidina* morphotype. **Persoonia**, v.22, p.56-62, 2009.

Recebido em 31 de outubro de 2019

Aceito em 5 de dezembro de 2019



Compartilhar



Agrária Acadêmica

Mídias/Notícias/Publicações

Use um leitor de QR code ou acesse
<https://app.vc/agrariacad> pelo celular