

**EFEITO DE EXTRATOS FOLIARES DE NIM
EM *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* E NA
INTENSIDADE DO MAL-DO-PANAMÁ EM
MUDAS DE BANANEIRA CV. MAÇÃ**

LUCIVÂNIA SANGUINETTE SILVA

2010

**EFEITO DE EXTRATOS FOLIARES DE NIM
EM *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* E NA
INTENSIDADE DO MAL-DO-PANAMÁ EM
MUDAS DE BANANEIRA CV. MAÇÃ**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração em produção vegetal, para obtenção do título de “Magister Scientiae”

Orientadora

Prof. DSc. Adelica Aparecida Xavier

**JANAÚBA
MINAS GERAIS - BRASIL
2010**

S586e Silva, Lucivânia Sanguinette.
Efeito de extratos foliares de nim em *fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e na intensidade do mal do panamá em mudas de bananeira cv. maçã [manuscrito] / Lucivânia Sanguinette Silva. – 2010.
54 p.
Dissertação (mestrado)-Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal no Semiárido, Universidade Estadual de Montes Claros-Unimontes, 2010.
Orientadora: Profª. D.Sc. Adélica Aparecida Xavier.

1. Bananeira. 2. Fitopatologia. 3. Mal do Panamá. 4. Nim indiano. I. Xavier, Adélica Aparecida. II. Universidade Estadual de Montes Claros. III. Título.

LUCIVÂNIA SANGUINETTE SILVA

**EFEITO DE EXTRATOS FOLIARES DE
NIM EM *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* E NA
INTENSIDADE DO MAL-DO-PANAMÁ EM
MUDAS DE BANANEIRA CV. MAÇÃ**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Montes Claros, como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Produção Vegetal no Semiárido, área de concentração Produção Vegetal, para obtenção do título de “Magister Scientiae”

Aprovada em 29 de janeiro de 2010.

Adelica Aparecida Xavier
DSc. Fitopatologia/UNIMONTES
(Orientadora)

Regina Cássia Ferreira Ribeiro
DSc. Fitopatologia/UNIMONTES
(Co-orientadora)

Sérgio Avelino Mota Nobre
DSc. Fitopatologia/UNIMONTES

Mário Sérgio Carvalho Dias
DSc. Fitopatologia/EPAMIG/NTBM

**JANAÚBA MG
MINAS GERAIS – BRASIL**

Ao presente de Deus e amado filho, Lucas Rafael (*in memoriam*)

DEDICO

OFEREÇO

A Deus meu refúgio e fortaleza;

Aos meus amados filhos, Luiz Guilherme, Ana Luisa e Ludmilla;

Ao meu esposo, Eder;

Aos meus queridos pais;

Aos meus irmãos, Janice, Nádía e Fabiano;

Aos meus sobrinhos, Gustavo, Giovana, Marina, Gabriel e Matheus;

A todos os familiares e amigos;

“Semeai pra vós em justiça, ceifai o fruto do constante amor, e lavrai o campo de lavoura, porque é tempo de buscar ao Senhor, até que venha e chova a justiça sobre vós”.

Os 10:12

AGRADEÇO

A Deus, fonte de Luz e confiança durante minha caminhada;

A meu querido esposo, Eder;

A meus filhos, razão de viver;

À professora Adelica, pela orientação, carinho e dedicação;

À professora Regina, pela coorientação e amizade;

Aos professores Edson e Sérgio e ao pesquisador Dr. Mário Sérgio, pela colaboração;

Aos colegas de laboratório, Mara, Elizete, Isaac, Janaína, Acleide, Alexandre, Rubens, André, Humberson, Polliana, Jéferson, Maykon, Leandro, Lívia, Frederick e Magno, pelo apoio e amizade;

A toda minha família, pela força nos momentos difíceis;

À Lani, pelo cuidado com minha família;

À Penha, pela colaboração e amizade;

À Unimontes, professores e funcionários, pela oportunidade de aprendizado;

OBRIGADA!

SUMÁRIO

	Pág.
RESUMO	i
ABSTRACT	iii
1 INTODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	4
3 OBJETIVO	12
4 MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1 Multiplicação e preparo da suspensão de inóculo	13
4.2 Obtenção dos extratos aquosos foliares	13
4.3 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim no crescimento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	14
4.4 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim na produção de conídios de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	15
4.5 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim na produção de clamidósporos de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	15
4.6 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim na germinação de conídios de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	16
4.7 Efeito da aplicação dos extratos de folhas frescas e desidratadas de Nim na intensidade do mal-do-Panamá e no desenvolvimento de mudas de bananeira cv.Maçã em casa de vegetação	17
4.8 Análise estatística	17
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.1 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim no crescimento micelial de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	20
5.2 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim na produção de conídios de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	23
5.3 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim na produção de clamidósporos de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	25
5.4 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim na germinação de conídios de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	27
5.5 Efeito da aplicação dos extratos de folhas frescas e desidratadas de Nim na intensidade do mal-do-Panamá e no desenvolvimento de mudas de bananeira cv.Maçã em casa de vegetação	33
6 CONCLUSÕES	41
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
8 ANEXOS	50

RESUMO

SILVA, Lucivânia Sanguinette. **Efeito de extratos foliares de Nim em *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e na intensidade do mal do Panamá em mudas de bananeira cv. maçã.** 2010. 54 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semiárido) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.

O mal do Panamá, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), constitui-se em um dos maiores problemas fitossanitários para a bananicultura no Brasil. Investigações na busca de controle alternativo em patossistemas do gênero *Fusarium* sp. têm sido realizadas, e neste contexto o efeito Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) tem sido estudado. Os objetivos deste trabalho foram avaliar: 1) *In vitro* o efeito do extrato de folhas frescas e desidratadas de Nim no desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC); 2) A intensidade da doença e desenvolvimento de mudas de bananeira irrigadas com extrato de Nim aplicado via água de irrigação em casa de vegetação. Para isso, adicionaram-se os extratos de folhas frescas e desidratadas ao meio BDA ajustando-se as concentrações finais para 1,19; 1,74; 2,27; 2,77 e 3,26%. As placas foram incubadas a 25 °C em escuro contínuo e aos sete dias avaliaram-se o crescimento micelial (CM), produção de conídios (PC) e de clamidósporos (PCL). Avaliou-se a germinação na presença dos extratos filtrados em: membrana milipore (Germ1), filtro comum (Germ2) e filtro comum aquecido a 80 °C (Germ3). Para avaliar a intensidade da doença, mudas da variedade Maçã foram plantadas em solo arenoso, previamente fumigado, e após 15 dias do plantio o solo foi infestado com dois gramas de meio de fubá mais o fungo. As plantas foram irrigadas semanalmente com 100 mL dos extratos de folhas de nim e aos 120 dias da inoculação avaliaram-se a intensidade da doença, a altura de plantas (AP), o número de folhas (NF), a matéria seca de parte aérea (MSPA) e a matéria seca de raiz (MSR). Na presença do extrato de folhas frescas de Nim, houve ajuste linear para CM e Germ2, com inibição de 11,7 e 100% respectivamente. Houve redução de até 75,46% nas menores concentrações do extrato para PCL, e nenhum efeito sobre a PC. Na presença do extrato de folhas desidratadas, ajustaram-se os modelos lineares para CM, PC e Germ2 com inibição de 30,27; 59,54 e 98%, respectivamente. Não houve efeito do extrato na PCL, Germ1 e Germ3. O extrato de folhas desidratadas foi mais eficiente que folhas frescas na redução da intensidade do mal-do-Panamá e, independente do

extrato, a severidade foi menor na concentração de 2,16%, e os valores de inibição variaram de 16,7% a 22,48%. Observou-se aumento linear na AP e MSPA com aumento das concentrações dos dois extratos testados. Para as variáveis: NF e MSR, os extratos de folhas desidratados apresentaram rendimento estatisticamente superior. Observou efeito das concentrações apenas para NF e o modelo ajustado mostrou aumento linear de NF com aumento das concentrações utilizadas.

Termos para indexação: *Musa* spp.; Mal do Panamá; Nim indiano; *Azadirachta indica* A. Juss;

Comitê de Orientação: Adelica Aparecida Xavier – UNIMONTES (Orientadora)

ABSTRACT

SILVA, Lucivânia Sanguinette. **Effect of neem leaf extract on *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* and on Panama disease intensity in banana cv. Maçã plants.** 2009. XX p. Dissertation (Master's degree in Plant Production in the Semi-arid) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, MG.

Panama disease, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC), is one of the greatest fitossanitary problems for the banana plant in Brazil. Researches for alternative control of *Fusarium* sp. genus pathosystems has been carried out and thus, the effect of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) has been studied. This work aimed to evaluate: 1) *in vitro* effect of fresh and dehydrated neem leaf extract on the development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC); 2) disease severity and development of banana plants irrigated with neem extract in greenhouse. For that, were added the extracts of *fresh* and dehydrated leaves to PDA medium adjusting the final concentrations to 1,19; 1,74; 2,27; 2,77 and 3,26%. The plates were incubated at 25 °C in continuous dark and at seven days were evaluated the mycelial growth (MG), conidia (CP) and chlamydospores production (CLP). Germination was evaluated with the extracts filtered through: Millipore membrane (Germ1), (Germ2) and heated common filter to 80 °C (Germ3). In order to assess the disease severity, plantlets of Maçã variety were planted on sandy soil previously fumigated, and after 15 days from planting, the soil was infested with two grams of maize flour medium plus fungus. The plants were irrigated weekly with 100 mL of the neem leaf extracts and at 120 days after inoculation were evaluated: disease intensity, plant height (PH), leaves number (LN), shoot dry matter (SDM) and root dry matter (RDM). In the presence of fresh neem leaves extract, there was linear adjustment for MG and Germ2, with inhibition of 11,7 and 100% respectively. There was decrease of up

to 75.46% in lower extract concentrations for CLP and no effect on the CP. In the presence of dehydrated extract were adjusted linear models for MG, CP and Germ2 with inhibition of 30,27; 59,54% and 98%, respectively. There was no effect of the extract on the CLP, Germ1 and Germ3. The dehydrated leaf extract was more efficient than fresh leaf one in the reduction of the disease Panama intensity and independently of the extract, the severity was smaller at concentration of 2,16% and the inhibition values changed from 16,7% to 22,48%. It was observed linear increasing in the PH and SDM with increasing of the concentrations of the two tested extracts. For the variable: LN and RDW, the dehydrated leaf extract presented effect statistically superior. It was observed effect of the concentrations just for LN and the adjusted model showed linear increasing of LN with increasing of the used concentrations.

Index terms: *Musa* spp., Panama disease, Indian neem, *Azadirachta indica* A. Juss;

Guidance Committee: Adelica Aparecida Xavier. UNIMONTES (Adviso

1 INTRODUÇÃO

A banana é a segunda fruta mais produzida no Brasil (AGRIANUAL, 2009) sendo considerada de grande importância tanto pelo seu valor nutricional como pelo valor econômico e social que agrega à região onde é produzida. Estima-se que um hectare de banana gere um emprego direto e três indiretos.

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de banana com uma produção aproximada de 6,9 milhões de toneladas na safra de 2008 (AGRIANUAL, 2009), sendo que o estado de Minas Gerais ocupa a quinta posição com uma produção de 536.576 mil toneladas (IBGE, 2008). Dentre as regiões produtoras no Brasil, o Norte de Minas constitui-se em um pólo produtor, no qual é cultivada principalmente a bananeira `Prata Anã`.

Durante o cultivo da banana, várias doenças podem incidir e contribuir para a redução da qualidade e produtividade da cultura. Dentre estas, o mal-do-Panamá, causado pelo fungo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, tem assumido grande importância na região Norte-Mineira. De acordo com a SEAPA (2008), nesta região a redução média da produção desde 2007 foi provocada por esta doença.

Atualmente, o mal-do-Panamá ocorre de forma endêmica no Brasil e com maior severidade nas variedades `Maçã` e do subgrupo Prata quando cultivadas em solos arenosos, com pH ácido, desequilíbrio nutricional e baixo teor de matéria orgânica (VENTURA E HINZ, 2002).

O agente causal desta doença é um habitante natural do solo que pode sobreviver por vários anos na ausência do hospedeiro e por estruturas de resistência ou associados a restos de cultura (AGRIOS, 2004).

A principal medida de controle recomendada é o plantio de variedades resistentes à doença, porém, a aceitação de mercado destas variedades restringe o plantio das mesmas.

O controle químico do mal-do-Panamá não tem sido eficiente, assim, medidas de convivência devem ser adotadas. A implantação do bananal deve ser realizada preferencialmente em áreas sem histórico de ocorrência da doença e com a utilização de mudas sadias. Dessa forma, é imprescindível analisar e corrigir o solo, elevando o pH para níveis próximos à neutralidade, dar preferência a solos férteis com altos níveis de matéria orgânica, evitar solos mal drenados e exercer controle dos nematóides e da broca do rizoma, inspecionar periodicamente o bananal e erradicar plantas que apresentarem sintomas da doença (CORDEIRO, 1999).

Diante das dificuldades de controle neste patossistema, estudos com controle alternativos que possam reduzir o inóculo no campo e tempo de contato de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* com a bananeira são relevantes. O efeito fungitóxico de plantas tem sido investigado em diversos patossistemas. A incorporação de extratos de plantas que possam contribuir para a supressão de patógenos no solo constitui-se numa alternativa importante tanto no sistema convencional como nos sistemas orgânicos de produção de banana.

A prospecção de extratos vegetais com capacidade de controlar fitopatógenos tem sido realizada tanto por sua atividade antimicrobiana direta quanto indiretamente, por meio da indução de resistência (MOTOYAMA, 2003). Dentre estas plantas, o Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) constitui-se numa alternativa interessante já que tem apresentado resultados de redução de fitopatógenos tanto de parte aérea quanto de solo. Diferentes produtos do Nim têm sido testados no controle de fitopatógenos e com resultados promissores em fitonematóides (CARNEIRO, 2002). O efeito fungitóxico desta planta tem sido testado em fungos entomopatogênicos, e em patossistemas envolvendo fungos de

solo. Em trabalhos anteriores, utilizando o óleo de Nim, já foi evidenciada a redução do desenvolvimento *F. oxysporum* f. sp. *ubense in vitro* e em casa-de-vegetação (SILVA, 2006). A hipótese deste trabalho é que, na presença de extratos aquosos de Nim, o desenvolvimento de *F. oxysporum* f. sp. *ubense* e a intensidade do mal-do-Panamá são reduzidos e há estímulo do desenvolvimento de mudas de bananeira cv. Maçã.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

A bananeira (*Musa* spp.) pertence à família Musaceae e é considerada uma das frutas mais produzidas e consumida no mundo, sendo explorada na maioria dos países tropicais com produção mundial de 90,7 milhões de toneladas (FAO, 2008). O maior produtor da fruta é a Índia com 21.766.400 toneladas produzidas no ano de 2007, seguido pela China com 7.325.000 toneladas. O Brasil é o quarto maior produtor com 6.972.408 toneladas (AGRIANUAL, 2009). Esta fruteira é cultivada em todos os Estados do Brasil, e no Estado de Minas Gerais, no ano de 2008, a produção foi de aproximadamente 536.576 toneladas (IBGE, 2008). A região do Norte do estado constitui-se em um dos polos de produção de banana altamente tecnificada e responsável por 60 mil empregos diretos e indiretos o que caracteriza a sua importância socioeconômica regional (ABANORTE, 2008).

Durante todo o ciclo da bananeira, a cultura pode ser afetada por diversos patógenos, com reflexos negativos na produção. Dentre estes, destaca-se *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, agente causal do mal-do-Panamá (AGRIOS, 2004). A doença é também conhecida como murcha-de-fusarium, e originou-se provavelmente no sudeste da Ásia, mas foi primeiramente relatada na Austrália em 1876 (PLOETZ, 2003). No Brasil, foi inicialmente observada em Piracicaba (São Paulo) em 1930 e, em apenas três a quatro anos, dizimou cerca de um milhão de bananeiras cv. Maçã (CORDEIRO *et al.*, 2005a). Posteriormente, grandes áreas de banana Maçã foram dizimadas em outras regiões desse Estado e também em Minas Gerais, Goiás e Espírito Santo. Este patógeno ocorre em diferentes condições edafoclimáticas infectando diversas variedades de bananeira e causando elevados prejuízos aos bananicultores, por seu grande potencial destrutivo e pela dificuldade de aplicação de medidas de controle. No Brasil, o cultivo da variedade “Maçã” tem

sido realizado de forma itinerante em função da sua alta suscetibilidade à doença e à presença do patógeno no solo. No subgrupo Prata, esta doença tem se tornado um problema fitopatológico sério com perdas estimadas em até 20% (PLOETZ *et al.*, 2003).

Fusarium oxysporum é um fungo habitante do solo que no seu ciclo assexual produz microconídios e macroconídios e clamidósporos, e ciclo sexual não foi ainda observado na natureza. Os esporos podem infectar plantas da família Musaceae e da família Heliconiaceae, sendo que a infecção se inicia com a penetração do fungo pelas raízes secundárias ou terciárias ascendendo através do xilema até o rizoma e pseudocaule. Em estádios mais avançados internamente no pseudocaule e rizoma, observam-se pontuações de coloração pardo-avermelhada devido ao acúmulo de dopamina. Externamente, observa-se o amarelecimento do limbo das folhas mais velhas, progredindo para as mais novas. Com o tempo, as folhas murcham, secam e quebra o pecíolo junto à inserção do pseudocaule conferindo um aspecto de guarda-chuva fechado enquanto as folhas do cartucho e vela permanecem eretas. Verificam-se também rachaduras no pseudocaule próximo ao solo (PLOETZ *et al.*, 2003; NOGUEIRA, 2002; VENTURA e HINZ, 2002).

A disseminação do patógeno pode ocorrer pela água de irrigação ou de drenagem, animais, homem, equipamentos, material de plantio infectado e no contato de raízes sadias com o inóculo liberado por restos de rizoma, raízes e pseudocaule doentes (CORDEIRO, 1999).

A sobrevivência de FOC (*Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense*) ocorre por meio de clamidósporos que podem permanecer viáveis no solo por até 30 anos (PLOETZ *et al.*, 2003) e em restos culturais, o que dificulta o controle neste patossistema.

A severidade da doença está relacionada à genética do hospedeiro, à virulência do patógeno e às condições do ambiente solo. Dentre os principais genótipos de bananeiras resistentes, citam-se: Mysore, Ouro da Mata, Thap

Maeo, Pacovan Ken, Caipira, FHIA 01, FHIA 18, FHIA 21, SH 36-40, Terra, Yangambi Km 5 (Caipira), Garantida e Preciosa (VENTURA e HINZ, 2002; SAES, 2005). Com relação à variabilidade do fungo, são conhecidas quatro raças das quais a variedade Gros Michel é indicadora da raça 1, a Bluggoe da raça 2, *Heliconia* sp da raça 3 e as variedades do subgrupo Cavendish são indicadoras da raça 4 (CORDEIRO *et al.*, 2005).

No manejo de doenças de plantas causadas por fitopatógenos de solo, onde a intensidade de propágulos do patógeno é determinante para a ocorrência da doença, é fundamental adotar medidas que visem à redução do inóculo no solo e melhore a convivência com a doença. Assim, a adoção de medidas que modifiquem as condições de ambiente do solo e que desfavoreça o patógeno são preconizadas. Neste sentido, é importante, em áreas onde ocorra a doença, realizar a correção do pH mantendo-o próximo à neutralidade, adubação balanceada com relação potássio, cálcio e magnésio na proporção de 0,5:3:1 (BORGES *et al.*, 1999) e aumentar a matéria orgânica favorecendo o estímulo da microflora antagonista.

Diante das dificuldades de controle de fitopatógenos de solo, tem-se buscado medidas alternativas como a utilização de produtos naturais tais como tortas e biofertilizantes que sejam eficientes no controle de pragas e doenças das plantas e que não apresentem os efeitos negativos à saúde humana e ao meio ambiente (CARNEIRO *et al.*, 2007).

Em cultivos orgânicos, o uso de caldas, extratos, biofertilizantes, preparações homeopáticas e agentes de controle biológico podem reduzir a intensidade de doenças (DINIZ *et al.*, 2006). Diversos produtos naturais, dentre os quais os extratos de plantas medicinais, têm mostrado capacidade de controlar doenças em plantas, tanto por sua atividade antimicrobiana direta quanto indiretamente, por meio da indução de resistência (MOTOYAMA *et al.*, 2003).

As plantas são ricas em metabólitos secundários, como taninos, terpenóides, alcalóides e flavonóides (COWAN, 1999). Estes compostos podem apresentar atividade antifúngica e têm sido estudados para desenvolvimento de produtos fitossanitários.

Dentre as plantas com potencial antifúngico, destaca-se o Nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss) também conhecido por *Melia indica* Brandis. A planta é pertencente à família Meliaceae cujas propriedades inseticidas e medicinais são conhecidas pela população da Índia há vários séculos (PADOLE e THAKKAR, 2009). É oriunda da Ásia e é cultivada em vários países da África, na Austrália e no Brasil, onde se adaptou bem nas regiões Sudeste, Centro-oeste e Nordeste (NEVES, 1996).

A natureza química do Nim é estudada desde 1919 e diversas substâncias já foram descritas. Em 1942, foram identificadas três substâncias como o nimbin, o nimbidim e o nimbinene (PADOLE e THAKKAR, 2009). Nas décadas de 70 e 80, foram identificados mais de 150 compostos isolados das folhas, galhos e sementes em que os mais ativos pertencem à classe dos limonóides (SCHMUTTERER, 1990; citado por VIANA *et al*, 2006).

Dentre as substâncias isoladas, a azadiractina é o composto mais estudado do Nim. É caracterizada como um terpeno muito complexo e sua molécula ainda não foi sintetizada, assim todos os produtos são preparados pela extração dos compostos a partir da planta (MARTINEZ, 2002). A azadiractina é sensível à fotodegradação, podendo ter a ação inseticida reduzida pelos raios ultravioleta; entretanto, resultados obtidos no campo indicaram que extratos do Nim aplicados sobre as culturas podem permanecer com atividade inseticida por aproximadamente sete dias (SCHMUTTERER, 1990; citado por MARTINEZ, 2002).

Estudos realizados na Embrapa Milho e Sorgo por Viana *et al.*, (2006) indicam que o teor de azadiractina nas folhas de Nim varia de acordo com a

época do ano. Para as condições de Sete Lagoas, MG, a maior concentração dessa substância ocorre nos meses de março e abril, logo após o final do período chuvoso, e decresce acentuadamente no período de baixa precipitação pluviométrica (junho a setembro). A DL – 50 da Azadiractina é maior que 5.000 mg/kg em ratos; portanto, os produtos do Nim estão entre os mais seguros (PADOLE e THAKKAR, 2009).

Embora a azadiractina seja a substância mais estudada na planta do Nim dado seu efeito inseticida, outros compostos constituintes da planta têm sido descritos com efeitos sobre fitopatógenos. Govindachari *et al.* (1998), estudando a atividade antifúngica de terpenóides constituintes do óleo do Nim, verificaram que a azadiractina não afetou o crescimento de três fungos fitopatogênicos sendo eles *Drechslera oryzae* (Breda de Haan) Subram. & Jain, *Fusarium oxysporum* e *Alternaria tenuis* Nees; enquanto que a salanina, nimbina, epoxiazadiradiona, deacetilnimbina e azadiradiona apresentaram controle. Esses cinco terpenóides foram eficazes no controle de fungos e apresentaram maior ação quando aplicados em mistura do que quando testados isoladamente, sugerindo efeito sinérgico dessas substâncias.

De acordo com Carneiro (2002), diferentes produtos do Nim têm sido testados *in vitro* no controle de fitopatógenos e em casa-de-vegetação com aplicação direta do produto sobre a planta. A torta de Nim, subproduto da extração do óleo de suas sementes, contém um grande número de triterpenóides e é rica em aminoácidos, constituindo, por conseguinte, em um potencial adubo orgânico rico em nutrientes como nitrogênio, fósforo e potássio (PADOLE e THAKKAR 2009). O efeito antimicrobiano dos extratos de sementes do Nim foi estudado e constatada sua eficiência sobre uma gama de bactérias e fungos fitopatogênicos (COVENTRY e ALLAN, 2001). Moslem e El-Kholie (2009) avaliaram o efeito antifúngico dos extratos de sementes e de folhas de Nim a 40% sobre fungos fitopatogênicos. Os autores verificaram redução de 100% do

desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* e *Rhizoctonia solani* Kuhn, e de 80,7% e 71,2% de *Alternaria solani* (Ellis & G. Martin) L.R. Jones & Grout, e *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, respectivamente.

Testes *in vitro* revelaram eficiência na redução do desenvolvimento de *Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn, fungo causador de manchas foliares em algumas culturas. O extrato de folha do Nim adicionado ao meio de cultura reduziu em 73% o diâmetro da colônia, em 83% o peso seco do micélio em 94% a porcentagem de germinação dos esporos (BHOWMICK E VARDHAN, 1981; citado por CARNEIRO, 2002). Estudos realizados por Hassanein *et al.* (2008) evidenciaram a eficácia de extratos etanólicos de folha do Nim na inibição do crescimento de *Alternaria solani* e *Fusarium oxysporum* em 50,44% e 100%, respectivamente. Resultados semelhantes foram registrados por Ashraf e Javaid (2007) que, ao avaliarem o extrato de folhas de Nim sobre *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid, obtiveram 85 % de redução na biomassa fúngica. O efeito dos extratos aquosos de folhas do Nim (*Azadirachta indica*), jujuba (*Ziziphus spina-chisti* (L.) e *Zygothillium coccineum chisti* (L.) na concentração de 25% também foram testados, e apresentaram redução do desenvolvimento de *Fusarium solani* de 82,28; 79,15 e 76,95% para os respectivos extratos (HAIKAL, 2007).

A incorporação de folhas do Nim ao solo em casa-de-vegetação foi avaliada por Silva e Pereira (2008) no controle do complexo *Fusarium x Meloidogyne* em quiabeiro. Os autores relataram que a incorporação de 5% de folhas de Nim ao solo foi eficiente para o controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vasinfectum* W.C. Snyder & H.N. Hansen e *Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) Chitwood raça 1. A aplicação de extratos vegetais associados com agente de controle biológico, *Trichoderma harzianum* Rifai, no controle de fungos de solo foi investigado por Haikal (2007). O autor avaliou o efeito de extratos de plantas, entre elas *Azadirachta indica*, nas concentrações de 5, 10, 15, 20 e 25%

para o controle da podridão radicular em pepino causada por *Fusarium solani* e observou que todas as concentrações testadas foram eficientes para reduzir a biomassa fúngica. Constatou ainda que as mudas de pepino irrigadas com o extrato na concentração de 25% em combinação com a aplicação de *T. harzianum* apresentaram índices de doença de 2,44% em comparação com a testemunha que apresentou incidência de 41,46% de doença.

Uma das fontes do Nim mais difundidas e utilizadas na agricultura tem sido o óleo extraído das sementes. Seu efeito como inseticida é bastante divulgado e em alguns patossistemas a literatura demonstra potencial para sua utilização. Para fungos de solo Niaz *et al.* (2008a), avaliou-se o óleo de sementes de Nim coletadas em varias regiões do Paquistão contra os fungos *Fusarium moliniforme* J. Sheld, *Macrophomina phaseolina* e *Rhizoctonia solani* e constatou-se que todas as concentrações testadas foram superiores à testemunha e que na concentração de 0,025% o óleo de sementes coletadas em Karachi mostrou-se mais eficaz do que o fungicida Benomyl na concentração de 0,1% contra *Macrophomina phaseolina*. Silva (2006) verificou que o óleo de Nim adicionado ao meio de cultura reduziu em até 66 % o crescimento micelial e, em 77%, a produção de conídios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, e a severidade do mal-do-Panamá foi reduzida significativamente quando se adicionou via água de irrigação as diferentes doses testadas.

O óleo de semente de Nim teve seus efeitos avaliados no desenvolvimento de várias espécies de *Drechslera* sp. nas concentrações de 0,001; 0,01; 0,1 e 1% nas quais a inibição do crescimento micelial foi superior ao fungicida Benomyl nas mesmas concentrações (NIAZ *et al.*, 2008b). A pulverização de 0,25% do óleo em folhas de tomateiro em casa-de-vegetação foi eficiente no controle do oídio causado por *oidium lycopersici* Cooke & Massee mantendo a porcentagem de área foliar afetada igual ou abaixo de 1% (CARNEIRO, 2003).

Além de estudos sobre o efeito direto dos extratos de folhas de Nim sobre fitopatógenos, a literatura apresenta ainda relatos sobre o seu efeito como indutor de resistência em plantas. Plantas de gergelim (*Sesamo indicum* L. : Syn. *S. L. orientale*) que receberam a aplicação de extrato de nim tiveram uma redução de 75% da incidência da mancha de alternaria em relação ao tratamento-controle e apresentaram atividade de fenilalanina amônia liase significativamente maior que a testemunha. Além disso, o nível de peroxidase foi dez vezes maior nas amostras que receberam o extrato (GULERIA e KUMAR, 2006).

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito da aplicação de extratos aquosos de folhas de Nim em *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, na intensidade do mal-do-Panamá e no desenvolvimento de mudas de bananeira cv. Maçã.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 Avaliar o efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim sobre o crescimento micelial, produção de conídios e de clamidósporos e sobre a germinação de conídios de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

3.2.2 Avaliar os efeitos dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim na intensidade do mal-do-Panamá em mudas de bananeira ‘Maçã’.

3.2.3 Avaliar os efeitos dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim no desenvolvimento de mudas de bananeira ‘Maçã’.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido no laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Estadual de Montes Claros/UNIMONTES - Campus Janaúba.

4.1 Multiplicação e preparo da suspensão de inóculo

Para a realização dos ensaios *in vitro*, utilizou-se o isolado monospórico 124 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) isolado de bananeira 'Prata-anã' e pertencente à micoteca do Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da UNIMONTES. O cultivo foi feito em meio SNA (Synthetic nutrient-poor Ágar) e incubado a 25°C e fotoperíodo de 12 horas, por 10 dias.

Para preparo da suspensão de conídios, adicionaram-se a cada placa 40 mL da solução de água + Tween 20 a 0,05%, e com o auxílio de um pincel os conídios foram desagregados das colônias. A seguir, a suspensão foi calibrada em hemacitômetro.

4.2 Obtenção dos extratos aquosos foliares de Nim

As folhas utilizadas na preparação dos extratos foram coletadas semanalmente de plantas com oito anos de idade localizadas no horto da UNIMONTES – campus Janaúba – MG. Para os ensaios *in vitro*, as coletas foram realizadas nos meses de agosto e setembro dos anos de 2008 e 2009 e, para os ensaios de casa-de-vegetação, de abril a agosto de 2009.

Para o preparo do extrato aquoso de folhas desidratadas, as folhas foram coletadas e desidratadas em estufa a 65 °C por 72 horas. Posteriormente, foram trituradas em moinho de facas e 10 gramas do pó obtido foram adicionados a 90 mL de água destilada. O extrato aquoso de folhas frescas foi obtido a partir da trituração em liquidificador de 10 gramas de folhas recém-coletadas mais 90 mL de água destilada.

As suspensões de ambos os extratos permaneceram em repouso em recipiente totalmente fechado com papel alumínio por um período de 24 horas sob temperatura ambiente. Após este período, realizou-se a filtração da suspensão em filtro Whatman de celulose e, em seguida, a suspensão foi submetida a cinco filtrações consecutivas em filtro com membrana Millipore de 0,2 µm acoplado à bomba de vácuo. Os filtrados foram utilizados nos ensaios *in vitro*.

4. 3 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim no crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Os extratos foram adicionados distintamente em meio BDA (Batata-Dextrose-Ágar), previamente autoclavado e em temperatura de aproximadamente 40°C, de forma que se ajustassem as concentrações finais dos extratos para 1,19; 1,74; 2,27; 2,77 e 3,26%. Em seguida, os meios foram vertidos em placa de Petri e, após a solidificação, um disco de cinco milímetros de diâmetro das colônias de FOC foi transferido para o centro das placas, as quais foram incubadas a 25 ± 2 °C em BOD e escuro contínuo por sete dias. No tratamento-testemunha adicionou-se água destilada estéril. Após sete dias, quando o tratamento testemunha atingiu a extremidade da placa, estimou-se o

crescimento micelial medindo-se o diâmetro da colônia do fungo nos dois sentidos perpendiculares da mesma.

4.4 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim na produção de conídios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Para estimar a produção de conídios, adicionaram-se às colônias descritas anteriormente 40 mL de água destilada mais tween 20 a 0,05% e, com auxílio de um pincel, desagregaram-se os conídios da mesma. A suspensão foi filtrada em camada dupla de gaze e mantida em geladeira durante a quantificação dos esporos realizada com o auxílio do hemacitômetro sob microscópio óptico.

4.5 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim na produção de clamidósporos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Um disco da colônia de FOC, com 10 dias de crescimento, foi transferido para o centro de placas contendo meio BDA e os extratos nas diferentes concentrações as quais foram incubadas conforme descrito no item 4.3: porém, incubadas por 30 dias. Após este período, com auxílio de um pincel, o micélio e os conídios da colônia foram suspensos em 40 mL de água mais tween 20 a 0,05%, a qual foi submetida à agitação com triturador mecânico à rotação de 27.000 rpm por cinco minutos. Na suspensão obtida, adicionaram-se cinco gotas de lactofenol mais azul de algodão a 0,05%, e foi mantida por 24 h sob refrigeração. O número de clamidósporos foi estimado por meio da contagem em hemacitômetro, sob microscópio óptico conforme metodologia descrita por

SANTOS (2008). Consideraram-se como clamidósporos as estruturas no micélio e conídio que apresentavam o espessamento da parede.

4. 6 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim na germinação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Realizaram-se três ensaios de germinação de conídios utilizando: 1) o extrato filtrado em membrana Millipore a 0,2 µm; 2) o extrato foi filtrado em filtro Whatman de celulose porém, sem a filtração em membrana Millipore a 0,2 µm e 3) os extratos não filtrados em Millipore porém, submetidos à aquecimento em banho-maria a 80 °C por 20 minutos de acordo com a metodologia de Mariano *et al.* (2000).

Para a avaliação do efeito dos extratos sobre a germinação de conídios, utilizaram-se tubos de ensaio contendo um mililitro da suspensão de conídios na concentração de 2×10^5 conídios/mL adicionado do mesmo volume de extrato de folhas (item 4.2) nas concentrações de 6,52; 5,54; 4,54; 3,48 e 2,38%. Após a mistura, os tubos contendo as suspensões nas concentrações: 0; 1,19; 1,74; 2,27; 2,77 e 3,26% mais a suspensão de conídios na concentração de 10^5 conídios/mL foram incubados em câmara de crescimento a 25 °C por cinco horas. Em seguida, adicionaram-se cinco gotas de lactofenol mais azul de algodão para paralisar a germinação, e verificaram-se 100 conídios sob microscópio óptico, quantificando-se os germinados e não germinados. Considerou-se conídio germinado aquele que apresentou tubo germinativo maior ou igual ao comprimento do esporo.

4.7 Efeito da aplicação dos extratos de folhas frescas e desidratadas de Nim na intensidade do mal-do-Panamá e no desenvolvimento de mudas de bananeira cv. Maçã em casa-de-vegetação

O fungo foi cultivado em meio de fubá composto por 500 g de fubá mais 50 g de areia umedecido com 100 mL de água (10:1 m/m e 20% de umidade) por período de trinta dias. Mudas micropropagadas da variedade ‘Maçã’ com aproximadamente 15 centímetros foram transplantadas para vasos plásticos contendo seis litros de solo arenoso previamente esterilizado com brometo de metila (35 mL/250 Kg de solo). Dez dias após o plantio, fez-se a infestação do solo com dois gramas do inóculo multiplicado em meio de fubá, o qual foi adicionado em torno do pseudocaule da planta em profundidade de aproximadamente dois centímetros. Vinte e quatro horas após a inoculação, as plantas foram irrigadas com as concentrações referidas anteriormente dos extratos não filtrados em Millipore. As testemunhas receberam somente água. As aplicações foram realizadas semanalmente durante 120 dias. Após este período, avaliou-se a intensidade da doença utilizando a escala de notas desenvolvida por Carlier *et al.* (2003) (Figura 1).

Para avaliar o efeito do extrato de folhas de Nim no desenvolvimento das plantas, quantificaram-se o número de folhas, altura de plantas da base do rizoma até a última folha desenvolvida, peso de matéria seca de raiz e parte aérea.

4.8 Análise estatística

O delineamento experimental dos ensaios *in vitro* foi inteiramente casualizado composto por seis tratamentos constituídos das doses dos extratos com cinco repetições, e cada placa ou tubo constou de uma parcela

experimental. No tratamento-testemunha de todos os experimentos foi adicionada água destilada e esterilizada sem incorporação dos extratos.

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando os valores de F foram significativos, ajustaram-se os modelos matemáticos por meio da análise de regressão. Quando não houve ajuste do modelo, realizou-se teste de médias Tukey ($p \leq 0,05$).

No ensaio de casa-de-vegetação, o delineamento estatístico utilizado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial com dois extratos de folhas: frescas e desidratadas, cinco concentrações, mais a testemunha. Cada tratamento constou de 10 repetições, sendo cada repetição representada por uma planta.

Os dados foram submetidos à análise de variância e, quando os valores de F foram significativos, ajustaram-se os modelos matemáticos por meio da análise de regressão. Quando não se encontraram equações ajustáveis, realizou-se teste de médias Scott-Knott ($p \leq 0,05$).



FIGURA 1. Escala de notas para avaliação de severidade do Mal-do-Panamá INIBAP (CARLIER *et al.*, 2003).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim sobre o crescimento micelial de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

Houve efeito significativo das concentrações testadas de ambos os extratos sobre o crescimento micelial de FOC. O modelo de regressão para as concentrações dos extratos mostrou redução linear do crescimento micelial com o aumento das concentrações. Na concentração de 3,26% de extrato de folhas frescas, a redução foi de 11,7% (Figura 2a), e para o extrato de folhas desidratadas a redução foi de 30,27%.

Resultados semelhantes aos observados para extrato de folhas desidratadas neste trabalho foram relatados por Ahmed *et al.* (2002). Estes autores ao avaliarem o extrato de folhas de Nim (100 g de folhas/100 mL de água esterilizada) diluído a 1:8 sobre o crescimento micelial de *Bipolaris oryzae* concluíram que todas as concentrações testadas inibiram o crescimento do fungo com variação de 18,98 a 43,32%. Da mesma forma, Marcano *et al.* (2005) verificaram que extrato aquoso de sementes de Nim na concentração de 30g/L reduziu o crescimento micelial de *Sclerotium rolfsii* Sacc em 33,33%, proporcionando uma redução superior ao fungicida iprodione na concentração de 3g/L. Moslem e El-Kholie (2009) testaram os extratos etanólico e o metanólico de folhas de Nim na concentração de 40% e obtiveram redução de 100% do crescimento micelial de *F. oxysporum solani*. Esta diferença na redução observada por estes autores pode estar relacionada a maior concentração utilizada e também pela diferença no solvente utilizado.

Outros produtos de Nim, como o óleo, têm apresentado maior eficiência do que os extratos sobre o crescimento micelial. Pignoni e Carneiro (2005) ao testarem as concentrações de 0,01 a 1,25% do óleo observaram uma redução de 72,0 e 77,78% no crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum* e *Alternaria solani*, respectivamente. O produto comercial Bioneem adicionado ao meio de cultura reduziu em 66% o diâmetro da colônia de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (SILVA, 2006).

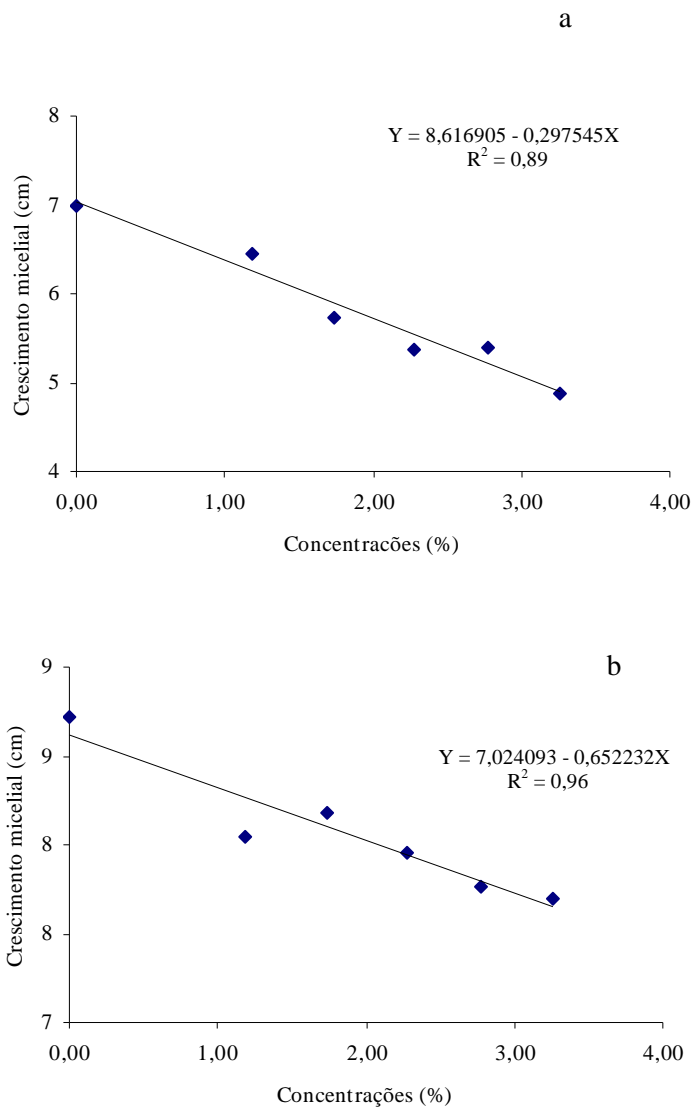
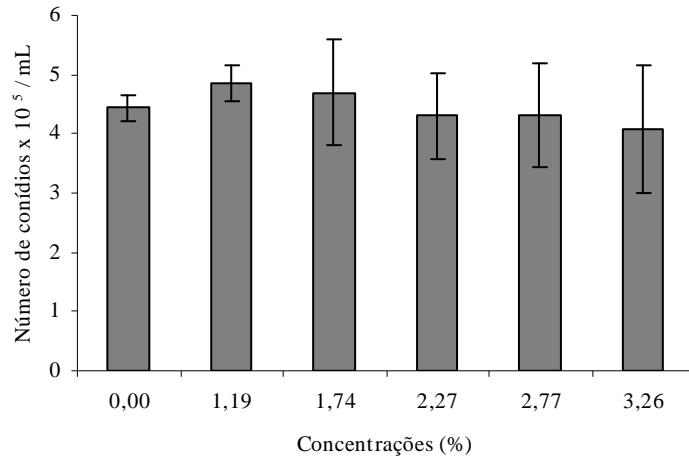


FIGURA 2. Diâmetro de colônias de *F.oxysporum* f. sp. *cubense* desenvolvidas na presença de diferentes concentrações do extrato de folhas frescas (a) e desidratadas (b). CV (%)= 48,42 (a) e 2,42 (b)

5.2 Efeito dos extratos aquosos de folhas de Nim sobre a produção de conídios de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

A produção de conídios de FOC não foi afetada pelas diferentes concentrações do extrato de folhas frescas (Figura 3a). Na presença do extrato de folhas desidratadas houve efeito significativo das concentrações na produção de conídios de FOC, e o modelo ajustado mostrou redução desta variável com aumento da concentração, visto que na maior concentração a redução foi de 40,49% em relação à testemunha (Figura 3b). Resultado semelhante foi observado por Silva (2006) ao avaliar o Bioneem, produto comercial à base de Nim, o qual apresentou 77,8% de redução na esporulação de FOC. Da mesma forma, Deepak *et al.* (2007) constataram que o produto comercial Nutri-Neem na concentração de 0,5% reduziu parcialmente a esporulação de dez espécies de diferentes fungos e, dentre estes, cinco eram do gênero *Fusarium*.

a



b

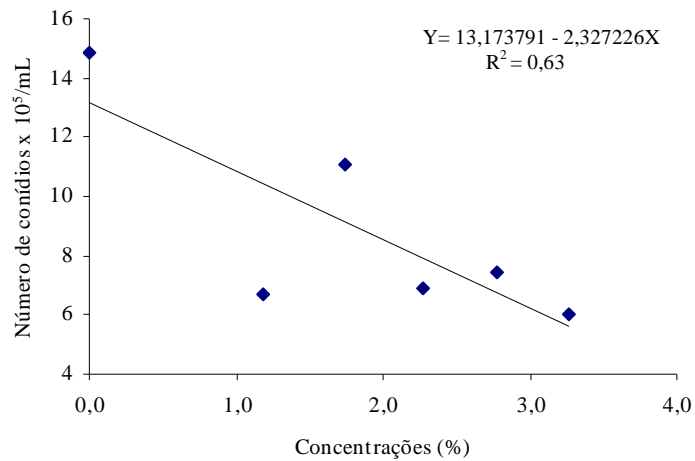


FIGURA 3. Número de conídios de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* produzidos em diferentes concentrações do extrato de folhas frescas (a) e desidratadas (b) de Nim. Barras não diferiram entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) = 16,93 (a) e 43,39 (b).

5.3 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de *Nim* sobre a produção de clamidósporos de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

Não houve ajuste de modelos de regressão testados para concentrações do extrato de folhas frescas e desidratadas para o número de clamidósporos de FOC. Contudo, considerando o teste de média ($p \leq 0,05$), houve redução significativa da produção de clamidósporos nas concentrações de 1,19; 1,74 e 3,26 do extrato de folhas frescas. A maior inibição (23,55%) foi verificada na concentração de 1,74 % (Figura 4a). Nenhum efeito foi observado nas diferentes concentrações de extrato de folhas desidratadas (Figura 4b).

Resultados semelhantes foram encontrados por Lopes (2009) que observou redução significativa na produção de clamidósporos de FOC nas concentrações de 0,25; 1,00; 1,25 e 2,50% de extrato de torta de mamona adicionado ao meio.

A redução na produção de clamidósporos é um dado importante, uma vez que estas estruturas de resistência dão ao patógeno condições de permanecer viável no solo por períodos superiores há 30 anos mesmo na ausência do hospedeiro (PLOETZ *et al.*, 2003). São escassos os trabalhos envolvendo a avaliação de produção e viabilidade de estruturas de resistência neste patossistema.

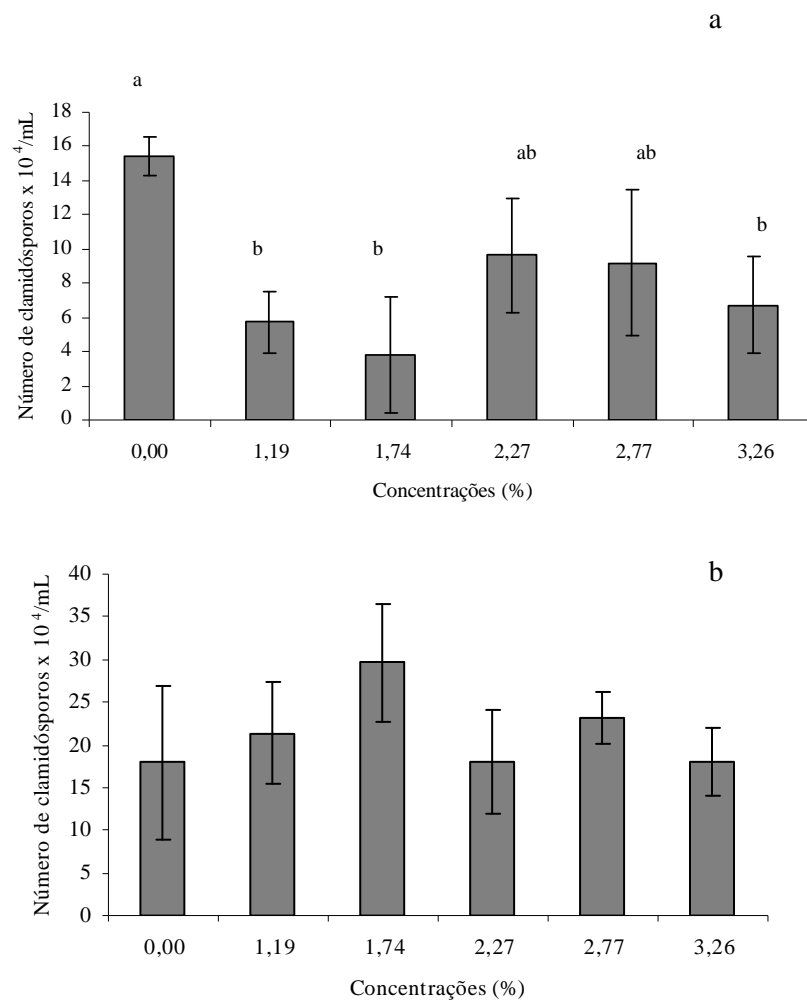


FIGURA 4. Número de clamidósporos de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* produzidos em diferentes concentrações do extrato de folhas frescas (a) e desidratadas (b) de nim. Barras não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) = 35,54 (a) e 27,62 (b).

5.4 Efeito dos extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de *Nim* sobre a germinação de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.

Não houve ajuste de modelo para a germinação dos conídios de FOC na presença de extratos de folhas frescas e desidratadas filtrados em membrana Millipore. A comparação das médias mostrou estímulo na germinação dos conídios em relação à testemunha para o extrato de folhas frescas em todas as concentrações, e o estímulo foi de 345% em relação à testemunha na concentração de 1,19% (Figura 5a). Para o extrato de folhas desidratadas, as concentrações de 2,77 e 3,26% foram estatisticamente iguais à testemunha, nas demais houve estímulo da germinação de até 332% (Figura 5b).

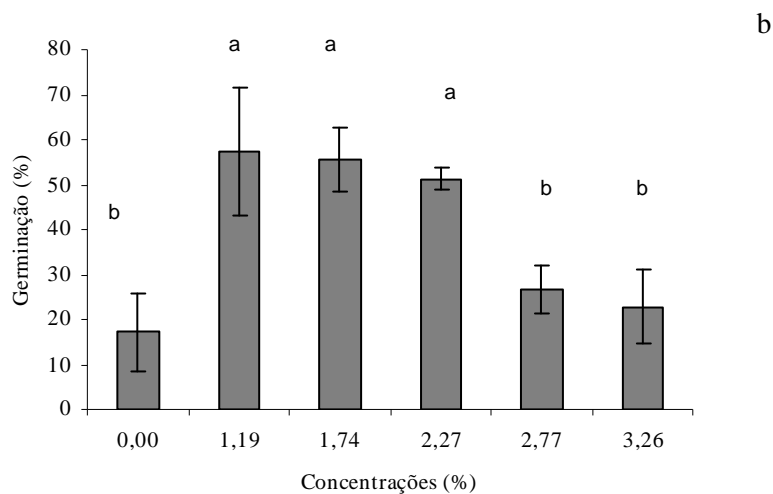
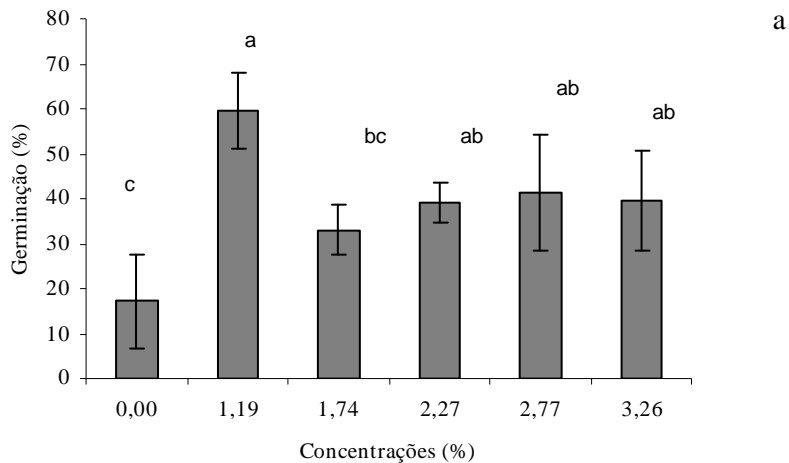


FIGURA 5. Porcentagem de conídios germinados na presença dos extratos de folhas frescas (a) e desidratadas (b) de Nim filtrados em membrana Millipore. Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) = 24,12 (a) e 21,90 (b).

A germinação dos conídios na presença dos dois extratos testados, sem a filtragem em membrana Millipore, foi reduzida com o aumento das concentrações (Figura 6 a e b). Nas concentrações de 2,27; 2,77 e 3,16% do extrato de folhas frescas, a inibição da germinação foi superior a 98% (Figura 6a).

Pesquisas em outros patossistemas que avaliaram o efeito de óleos essenciais e extratos vegetais sobre a germinação de conídios têm demonstrado resultados semelhantes. O efeito fungistático de isotiocianatos extraído de espécies brássicas foram demonstrados por Smolinska *et al.* (2003) sobre a germinação de conídios de *F. oxysporum* com médias de 100% de inibição. De acordo com Alam *et al.* (2002), o extrato da casca de Nim inibiu em 100% a germinação de conídios de *C. gloeosporioides*, e o extrato de folhas de Nim apresentou redução da germinação de até 90%. Sharma e Kumar (2009) relatam 100% de inibição da germinação de conídios de *F. oxysporum* na presença do extrato de *Capparis decidua* (Forssk.) Edgew, *Lantana camara* L. e *Tridax procumbens* L. Motoyama *et al.* (2003) obtiveram 100% de inibição da germinação de esporos de *C. lagenarium* (Pass.) Ellis & Halst e *F. semitectum* Berk. & Ravenel sob efeito do extrato cítrico na concentração de 5000 ppm. Souza Júnior *et al.* (2009), avaliando o efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Coletotrichum gloeosporioides*, concluíram que os óleos de alecrim-pimenta, alfavaca-cravo, capim-santo, cidrão e folhas de goiabeira em concentração de 1% inibiram em 100% a germinação dos conídios.

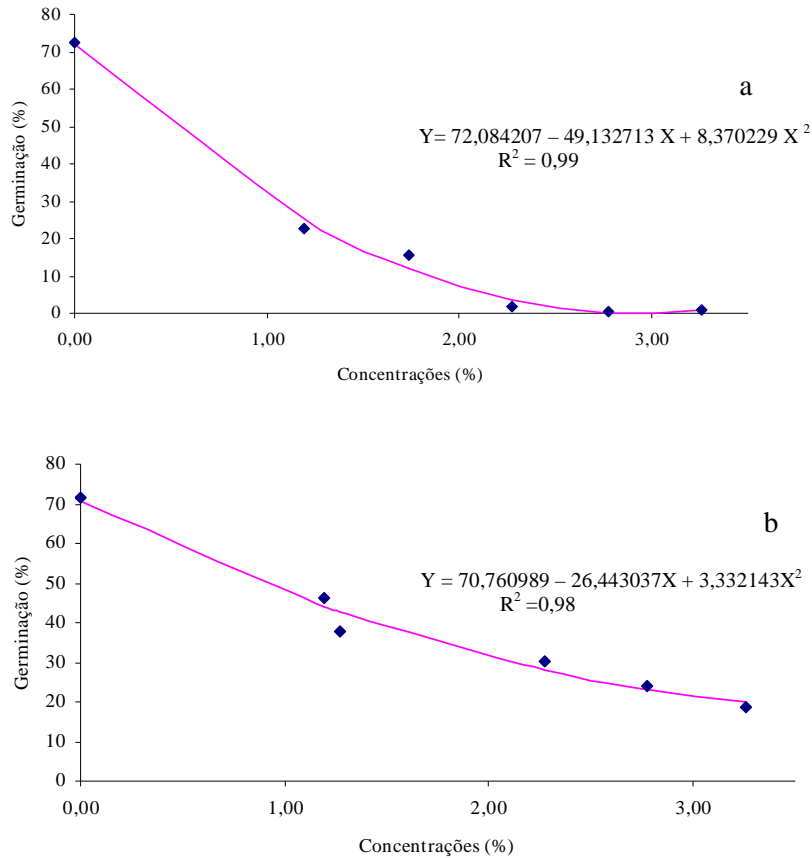


FIGURA 6. Porcentagem de conídios de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* germinados na presença de diferentes concentrações dos extratos não filtrados de folhas frescas (a) e desidratadas (b) de Nim. CV (%) = 50,80(a) e 21,15(b).

Quando se avaliou a germinação de conídios de FOC em extratos aquosos de folhas de Nim aquecidos não houve ajuste de modelo matemático. (Figura 7).

Os extratos não filtrados em membrana Millipore apresentaram uma eficiência na redução da germinação muito maior que os extratos filtrados e aquecidos. Durante as avaliações, observou-se atividade de microrganismos

presentes nos extratos sem filtragem, bem como a deformação e lise dos conídios. Ramos *et al.* (2007), ao testarem os extratos de folha de Nim a 35% sobre a germinação de conídios de *Crinipellis pernicioso* [(Stahel) Singer 1943], observaram que a germinação foi reduzida em aproximadamente 100%.

A hipótese de atividade germicida ser biológica foi investigada quando se avaliaram os extratos de folhas submetidos ao aquecimento de 80 °C por 20 minutos. Na presença dos extratos aquecidos, verificou-se que houve um estímulo da germinação evidenciando que a atividade inibitória registrada anteriormente era inativada. Alguns trabalhos têm mostrado grande número de fungos e bactérias endofíticas associadas à planta de Nim, assim, possivelmente, a presença de bactérias associadas a estes extratos podem estar relacionadas a este efeito. Em estudo realizado por Mahesh *et al.* (2005), foram isoladas da casca de Nim 77 espécies de fungos endofíticos. A atividade antifúngica de microrganismos endofíticos tem sido investigada apresentando resultados promissores na atividade antimicrobiana. Estudos realizados com bactérias isoladas do extrato de folhas de Nim inibiram em 100% a germinação de conídios de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* (GOMES *et al.*, 2009). Actinomicetos isolados de partes da planta de Nim mostraram significativa atividade antagonista a patógenos de raiz como *Pythium* e *Phytophthora* sp. (VERMA *et al.*, 2009). Zhao *et al.* (2009) verificaram atividade antifúngica de *Bacillus vallismortis* isolados da folha de *Ilex latifolia* Thunb na China para *F. graminearum*, *A. alternata* mesmo quando submetido à temperatura de 121 °C por 30 minutos. De acordo com Mariano *et al.* (2000), o aquecimento do extrato a 80 °C por período de 20 minutos possibilita a observação de atividade microbiana de microrganismos termotolerantes como, por exemplo, do gênero *Bacillus spp.*, que neste trabalho não foi observada.

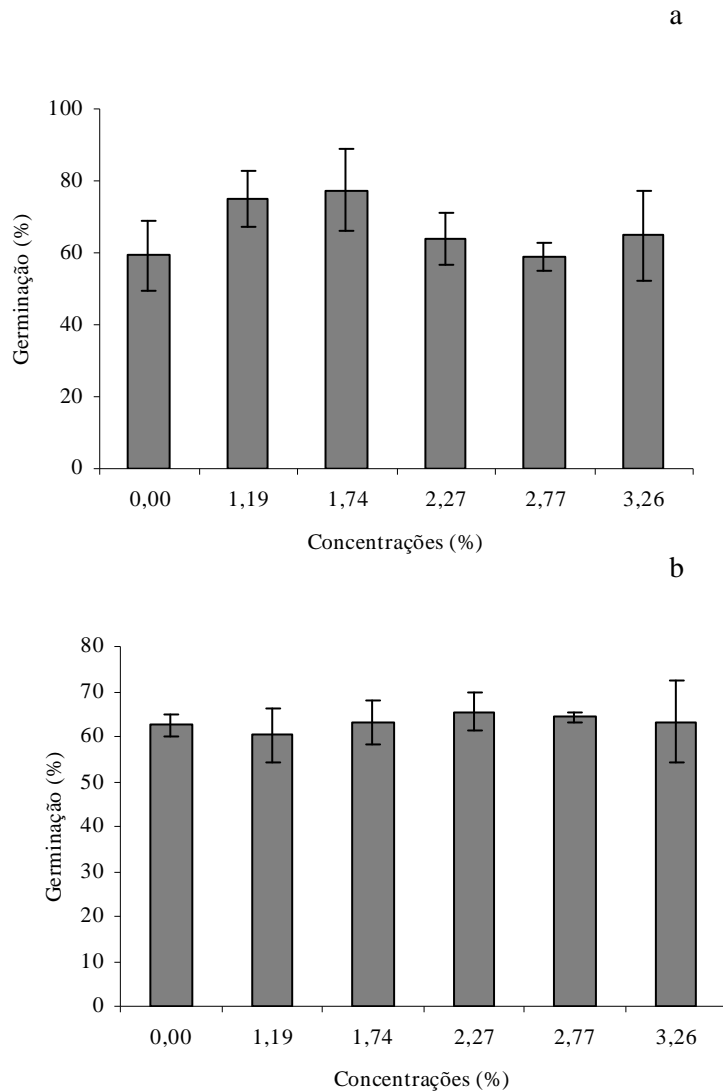


FIGURA 7. Porcentagem de conídios germinados de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* na presença de diferentes concentrações do extrato aquecido de folhas frescas (a) e desidratadas (b) de Nim . Barras não diferem entre si pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$). CV (%) = 13,78 (a) e 8,32.

5.5 Efeito da aplicação de diferentes concentrações do extrato de folhas de Nim frescas e desidratadas na incidência e intensidade do mal-do-Panamá e no desenvolvimento de mudas de bananeira Maçã em casa-de-vegetação

Nas plantas que receberam o extrato de folhas frescas, a incidência do mal-do-Panamá foi reduzida em 20% na concentração de 1,19%, e em 10% nas concentrações de 2,27%, e 3,26% em relação à testemunha; porém, nas que receberam o extrato de folhas desidratadas a incidência da doença foi de 100%.

O extrato de folhas desidratadas foi mais eficiente que folhas frescas na redução da intensidade do mal-do-Panamá (Tabela 1). Não houve interação entre os diferentes tipos de extratos testados e concentrações. Independente do extrato, a intensidade de doença foi reduzida com aumento das concentrações dos mesmos (Figura 8). A menor severidade foi estimada na concentração de 2,16% dos extratos apresentando uma redução de 22,5% comparada ao tratamento testemunha. A partir desta concentração, notou-se uma pequena tendência de aumento da severidade; entretanto, este aumento não superou 6% dos valores de menor severidade.

TABELA 1. Comparação das médias de severidade do mal-do-Panamá em mudas de bananeira Maçã irrigadas com os extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim.

Extratos	Severidade
Folhas desidratadas	3,583333
Folhas frescas	3,050000*
CV (%)	32,98

* As médias diferem entre si pelo teste F.

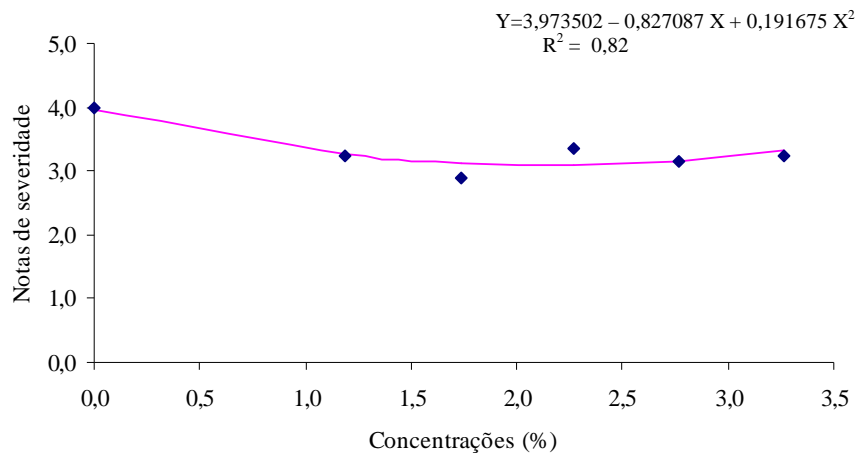


FIGURA 8. Notas de severidade do mal-do-Panamá em mudas de bananeira Maçã irrigadas com extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de nim. CV (%) = 32,98.

Esta redução na intensidade pode ter ocorrido tanto por atividade antimicrobiana direta quanto pela ativação de mecanismos de defesa da planta. Inúmeras pesquisas apontam o efeito supressivo de Nim sobre diversos patógenos (DEEPAK *et al.*, 2007; CARNEIRO, 2002) o que se atribui à presença de várias substâncias químicas como azadirachtin, nimbin, nimbolin, nimbolide, nimbinene, salanin, nimbidin, kaempferol, thionemone, gedunin, azaradione dentre outras nas sementes (NEVES, 1996; SADEGHIAN *et al.*, 2007). O efeito antimicrobiano desta parte da planta foi observado por Silva e Pereira (2008) ao avaliarem a incorporação de folhas sobre o complexo *Fusarium x Meloidogyne* em quiabeiro. Os autores obtiveram até 92 % de controle sobre *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum* [(Atk.) Snyder & Hansen] para a dose de 50 g/kg de solo. Sementes de pepino embebidas em extrato de folhas na concentração de 15%, e posteriormente plantadas em solo infestado por *F. solani*, evidenciaram redução de podridão radicular nas plântulas (HAIKAL,

2007). Este efeito foi observado em outros trabalhos com fungos de solo. Em feijoeiro cv. Carioquinha, a severidade do mofo branco foi reduzida em 76% no patossistema com a aplicação do extrato hidroetanólico de folhas de melão de são caetano (FARIA *et al.*, 2009).

Com relação à altura e à matéria seca da parte aérea das mudas, verificou-se que, com aumento das concentrações do extrato de folhas frescas e desidratadas, houve estímulo. O incremento na altura foi de 20 e 43% (Figura 9) e da matéria seca da parte aérea foi de 16,2 e 37,3% (Figura 10) para os extratos de folhas frescas e desidratadas, respectivamente. Resultados semelhantes foram relatados por Neves *et al.* (2008) ao comprovar que plantas de maracujá que tiveram suas sementes em contato com o pó de folhas de Nim, na concentração de 0,75 g/50 sementes por período de quatro horas, apresentaram o melhor valor para altura de plantas.

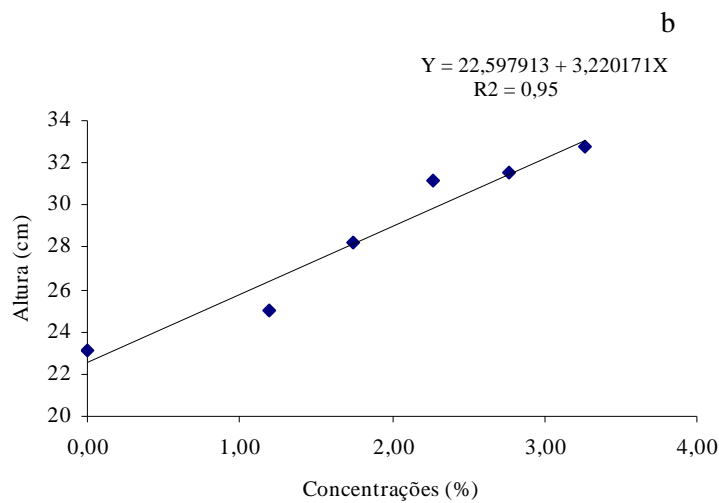
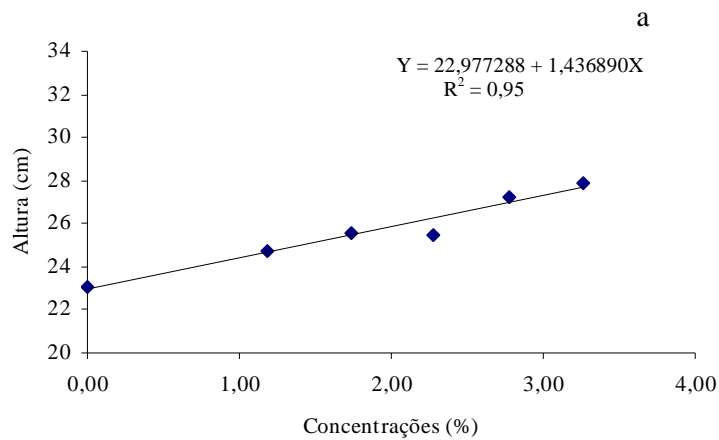


FIGURA 9. Altura de mudas de bananeira irrigadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas frescas (a) e desidratadas (b) de Nim. CV (%) = 8,48.

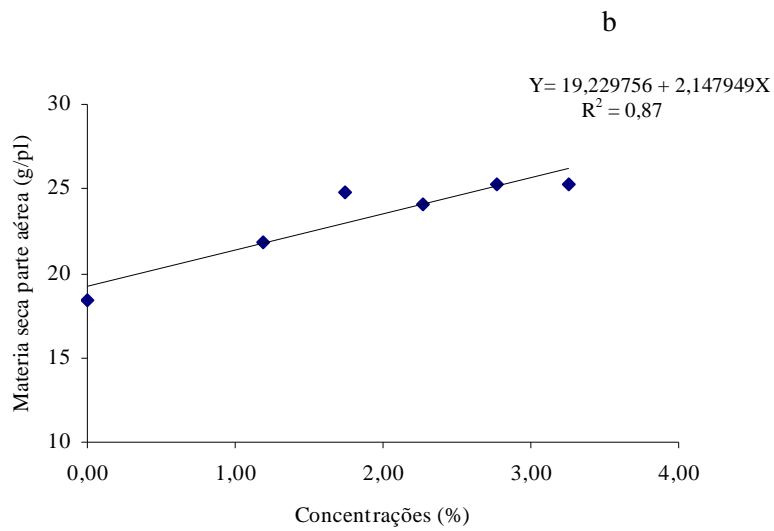
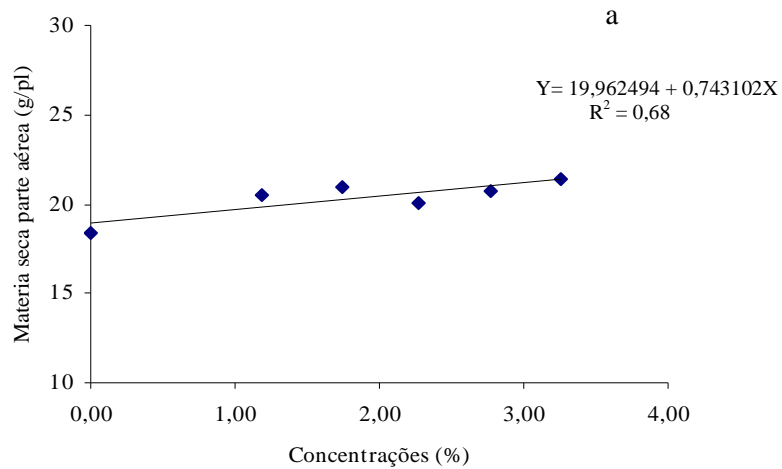


FIGURA 10. Peso de matéria seca da parte aérea de mudas de bananeira Maçã irrigadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas frescas (a) e desidratadas (b) de Nim. CV (%) = 10,32.

Independente do extrato utilizado observou-se o incremento do número de folhas com aumento das concentrações (Figura 11). Quando se compararam os dois extratos, verificou-se que o extrato de folhas desidratadas foi superior ao extrato de folhas frescas (Tabela 2).

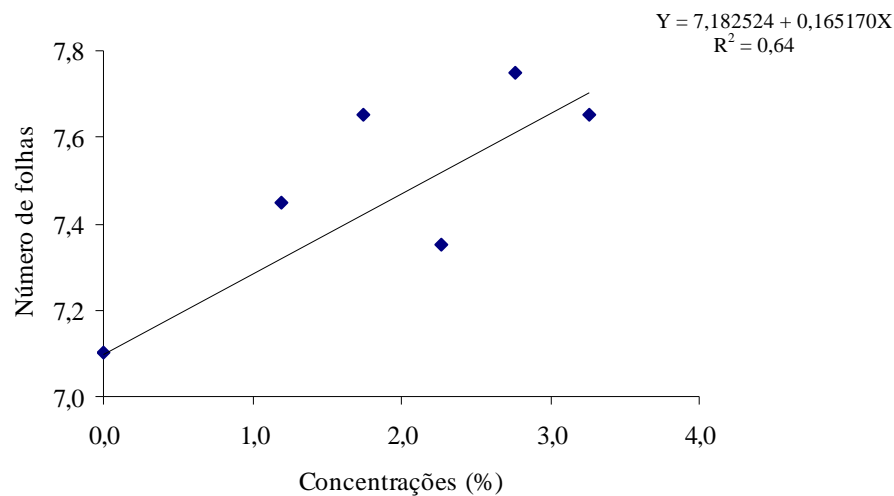


FIGURA 11. Número de folhas de mudas de bananeira Maçã irrigadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de Nim. CV (%) = 8,81.

A matéria orgânica adicionada ao solo favorece processos microbiológicos relacionados com a mineralização e liberação dos nutrientes para as plantas, estimulando seu desenvolvimento. Conforme Padole e Thakkar (2009), agricultores indianos, tradicionalmente, utilizam torta de Nim como fertilizante nos plantios de arroz e cana-de-açúcar. Estes autores relatam aumento na produtividade de até 25% quando se utilizou a torta adicionada à ureia na proporção de 1% e redução de 20% na quantidade de ureia aplicada. No presente trabalho, os nutrientes oriundos da folhas utilizadas no preparo do extrato podem ter sido mineralizados, absorvidos e metabolizados pelas plantas,

refletindo no estímulo de altura, matéria seca da parte aérea e número de folhas das plantas de bananeira.

TABELA 2. Comparação das médias do número de folhas de mudas de bananeira Maça irrigadas com extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim.

Extratos	Número de Folhas
Folhas desidratadas	7,716667 *
Folhas frescas	7,266667
CV.	8,81

- As médias diferem entre si pelo teste F.

O rendimento de peso de matéria seca de raiz não diferenciou entre as concentrações testadas; entretanto, o extrato de folhas desidratadas foi superior ao de folhas frescas pelo teste de médias (Tabela 3).

TABELA 3. Comparação das médias do peso de matéria seca de raiz de bananeira Maça irrigada com extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim.

Extratos	Peso de matéria seca de raiz
Folhas desidratadas	16,113333 *
Folhas frescas	15,685000
CV.	19,06

* As médias diferem entre si pelo teste F.

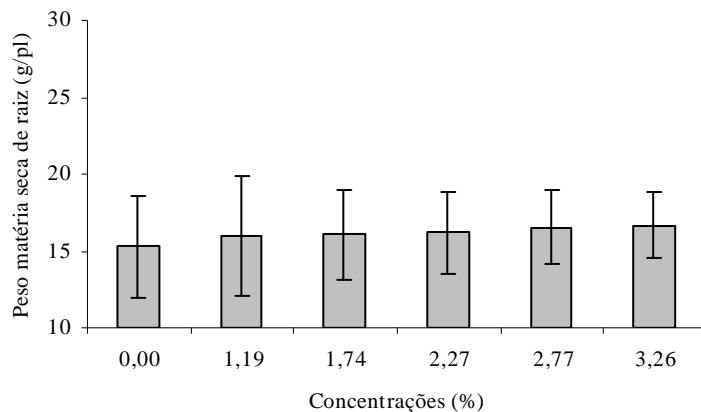


FIGURA 12. Peso de matéria seca de raiz de mudas de bananeira irrigadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas de Nim. Barras não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($p \leq 0,05$). CV (%) = 19,06.

No presente trabalho, a avaliação visual de plantas que receberam o extrato de folhas desidratadas na maior concentração mostrou necrose do tecido externo da parte inferior do pseudocaule próximo ao solo. Isto pode ter ocorrido em função de fitoxidez de algum metabólito presente no extrato de Nim. O efeito alelopático do extrato aquoso de folhas de Nim foi relatado por Fortes *et al.* (2009) sobre a germinação e comprimento médio da raiz de alface, soja e feijão quando se utilizaram concentrações superiores a 20%.

6 CONCLUSÕES

- Os extratos aquosos de folhas frescas e desidratadas de Nim apresentam efeito fungitóxico sobre o crescimento micelial e a germinação de esporos de *F. oxysporum* f. sp. *cubense*.
- A produção de conídios de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* é reduzida com o aumento das concentrações do extrato aquoso de folhas desidratadas.
- A produção de clamidósporos de *F. oxysporum* f. sp. *cubense* é reduzida na presença do extrato de folhas frescas.
- O extrato aquoso de folhas de Nim reduz a intensidade do mal-do-Panamá em mudas de bananeira Maçã em casa-de-vegetação.
- Os extratos aquosos de folhas de Nim estimulam o número de folhas e peso da matéria seca da parte aérea das mudas de bananeira.
- O extrato de folhas frescas de Nim tem potencial fungitóxico para uso em plantios orgânicos da bananeira.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO CENTRAL DOS FRUTICULTORES DO NORTE DE MINAS - ABANORTE, **Produtores de banana querem criar central**. Janaúba, Publicado 28 de out. 2008. Disponível em: <<http://www.abanorte.com.br/noticias/noticias-da-pagina-inicial/produtores-de-banana-querem-criar-central/>> Acesso em: 10 de jan. 2010.

AGRIANUAL 2009: Anuário da agricultura brasileira. São Paulo: FNP, 2009. p. 195-200.

AGRIOS, G. N. Diseases caused by fungal-like organisms. In: _____. **Plant Pathology**. 5th . São Paulo: Elsevier Academic Press, 2004. p. 404-414.

AHMED, f. et al. Effect of plant extracts against *Bipolaris oryzae* of rice under *in vitro* conditions. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 5 n. 4 p. 442-445, 2002. Disponível em: <<http://www.scialert.net/pdfs/pjbs/2002/442-445.pdf>> Acesso em: 20 out. 2009.

ALAM, S.; BANU, S.; ALI, F.; AKHTER, N.; ISLAM, R. *In vitro* inhibition of conidial germination of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. by fungicides, plant extracts and phytohormones. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 5, n. 3, p. 303-306, 2002. Disponível em: <<http://scialert.net/pdfs/pjbs/2002/303-306.pdf>> Acesso em: 26 out. de 2009.

ASHRAF, H.; JAVAID. A. Evaluation of antifungal activity of *Meliaceae* family against *Macrophomina phaseolina*. **Journal of Mycology And Phytopathology**, Lahore, v. 5, n. 2, p. 81-84, 2007. Disponível em: <<http://www.pu.edu.pk/mppl/journal/previousissue/Mycopath-3.pdf>> Acesso em: 27 out. de 2009.

BORGES, A. L.; OLIVEIRA, A. M. G.; SOUZA, L. da S. Solos, Nutrição e Adubação. IN: ALVES, E. J. (Ed.). **A cultura da banana**: Aspectos técnicos,

socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: EMBRAPA- SPI / Cruz das Almas: Embrapa – CNPMF, 1999, p. 197 – 270.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. Ação de Nim sobre fungos fitopatógenicos. IN: **O NIM – *Azadirachta indica***: natureza, usos múltiplos, produção. IAPAR: Londrina. p. 59 – 64, 2002.

CARNEIRO, S. M. de T. P. G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de Nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 29, n. 3, p. 262-265, 2003.

CARNEIRO, S.M. et al. Eficácia de extratos de Nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2007.

CARLIER, J.; WAELE, D. de; ESCALANT, J. Global evaluation of Musa germplasm for resistance to Fusarium wilt, Mycosphaerella leaf spot diseases and nematodes. [S.l.]: **INIBAP Technical Guidelines**, Montpellier, v.7. p. 27- 62, 2003.

CORDEIRO, Z. J. M. Doenças. In: ALVES, E. J. (Ed.). **A cultura da banana**: Aspectos técnicos, socioeconômicos e agroindustriais. Brasília: EMBRAPA- SPI / Cruz das Almas: Embrapa – CNPMF, 1999, p. 353 – 407.

CORDEIRO, Z. J. M.; MATOS, A. P.; KIMATI, H. Doenças em bananeira (*Musa* spp.). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M. BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Ed). **Manual de fitopatologia. Doenças das plantas cultivadas**. 4 ed. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v. 2., p. 99-117. 2005.

COVENTRY, E.; ALLAN, E. J. Microbiological and chemical analysis of neem (*Azadirachta indica*) extracts: New data on antimicrobial activity. **Phytoparasitica**, Rehovot, v. 9, n. 5, p. 441-450, 2001. Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/t112666183100504/fulltext.pdf?page=1>> Acesso em: 30 out. 2009

COWAN, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clinical microbiology Reviews**, Washington, v. 12, n. 4, p. 564-582, 1999. Disponível em: <<http://cmr.asm.org/cgi/reprint/12/4/564>> Acesso em: 30 out. 2009.

DEEPAK, S. A. et al. Antisporulant Activity of Watery Extracts of Plants against *Sclerospora graminicola* Causing Downy Mildew Disease of Pearl Millet. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, New Delhi, v. 2, n. 1, p. 36-42, 2007. Disponível em: <<http://www.scipub.org/fulltext/AJAB/AJAB2136-42.pdf>> Acesso em: 04 de jan. 2010.

DINIZ, L. P. et al. Avaliação de produtos alternativos para controle da requeima do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 171-179, 2006.

CULTIVOS bananos. Cantidad de producción. In: FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION THE UNITED NATIONS. **FAOSTAT-FAO statistical data bases**. Cantidad de producción. 2007. Disponível em: <<http://faostat.fao.org/DesktopDefault.aspx?PageID=567&lang=es#ancor>>. Acesso em: 10 de jan. 2010.

FARIA, F. A.; BUENO, C. J.; PAPA, M. de F. S. Atividade fungitóxica de *momordica charantia* L. no controle de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 31, n. 3, p. 383-389, 2009.

FORTES, A. M. T. et al. Alelopatia de extrato aquoso de folhas de Nim sobre espécies cultivadas e picão-preto – In: XII CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 2009, FORTALEZA. Fortaleza, 2009, **Anais...** Fortaleza, SBFV 2009.

GOMES, A. A. M. et al. Germinação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* na presença diferentes componentes de Nim (*Azadiracta indica* A. Juss) - In: III FÓRUM DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS, 2009, MONTES CLAROS. Montes Claros, 2009, **Anais...** Montes Claros, UNIMONTES, 2009. 1 CD-ROM.

GOVINDACHARI, T. R. et al. Identification of antifungal compounds from the seed oil of *Azadirachta indica*. **Phytoparasitica**, Rehovot, v. 26, n. 2, p. 109-116, 1998.

GULERIA, S.; KUMAR, A. *Azadirachta indica* leaf extract induces resistance in sesame against Alternaria leaf spot disease. **Journal of cell and Molecular Biology**, New York, v. 5, p. 81-86, 2006.

HAIKAL, N. Z, Improving biological control of *Fusarium* root-rot in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by allelopathic plant extracts. **International Journal of Agriculture e Biology**, Faisalabad, v. 9, n. 3, 2007. Disponível em: <http://www.fsublishers.org/ijab/past-issues/IJABVOL_9_NO_3/17.pdf> Acesso em: 29 out. de 2009.

HASSANEIN, N. M. et al. Efficacy of leaf extracts of neem (*Azadirachta indica*) and chinaberry (*Melia azedrach*) against early blight and wilt diseases of tomato. **Australian Journal of Basic and Applied Sciences**, Faisalabad, v. 2, n.3, p. 763-772, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Lavoura permanente**. Brasília, 2008. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/estadosat/temas.php?sigla=mg&tema=lavourapermanente2008>> Acesso em: 10 de janeiro 2010.

LOPES, E. P. **Efeito de tortas de algodão, mamona e pinhão manso na biologia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* e no desenvolvimento da bananeira “Prata anã”**, 2009, 66 p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal no Semi-Árido) Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2009.

MAHESH, B. et al. Endophytic mycoflora of inner bark of *Azadirachta indica* A. Juss. **Current Science**, Bangalore, v. 88, n. 2, 2005. Disponível em: <<http://www.ias.ac.in/currsci/jan252005/218.pdf>> Acesso em: 06 de jan. 2010.

MARCANO, D. A. de; VARGAS, N.; PIRE, A. Efecto de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial in vitro de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. **Revista de la Faculdade de Agronomia de la Universidad Central de Venezuela**, Caracas, v. 22, n. 4, 2005. Disponível em: <http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-78182005000400001&lng=pt&nrm=iso> Acesso em: 10 out. de 2009.

MARIANO, R. L. R.(Ed.). et al. Isolamento de bactérias para teste de antagonismo. In: _____ **Manual de Práticas em fitobacteriologia**. Recife, 2000, cap. 11, p. 115-121.

MARTINEZ, S. S. **O Nim – *Azadirachta indica***: natureza, usos múltiplos, produção. IAPAR: Londrina, p. 59 – 64. 2002.

MOSLEM, M. A.; EL-KHOLIE. Effect of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) seeds and leaves extract on some plant pathogenic fungi. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v. 12, n. 14, p. 1045-1048, 2009. Disponível em: < <http://scialert.net/pdfs/pjbs/2009/1045-1048.pdf>> Acesso em: 30 out. de 2009.

MOTOYAMA, M. et al. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v 25 n. 2 p.491-496. 2003. Brasil, 25 de abril de 2008. Disponível em: < <http://www.periódicos.uem.br/ojs/index.php/ActaSciAgron/article/view/2062/1617> > Acesso em: 09 de out. de 2009.

NEVES, B. P. das, **Circular Técnica nº 28 Cultivo e Utilização do Nim Indiano *Azadirachta indica* A. Juss**. Goiânia: Embrapa-CNPAF-APA,1996.

NEVES, N. N. de A. et al. Alelopatia do Nim nos aspectos fisiológicos da germinação de sementes de maracujá em distintos períodos de armazenamento. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 4, p. 105-112, 2008.

NIAZ, I. et al. Comparison of antifungal properties of neem seed oil collected from different parts of Pakistan. **Pakistan Journal of botany**, Karachi, v. 40, n. 1, p. 403-408, 2008(a). Disponível em: <[www.pakbs.org/pjbot/PDFs/40\(1\)/PJB40\(1\)403.pdf](http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/40(1)/PJB40(1)403.pdf)> Acesso em: 29 out. 2009.

NIAZ, I.; SITARA, U.; QUADRI, S. Effect of different seed oils and benlate fungicide on *in vitro* growth of four *Drechslera* species. **Pakistan Journal of botany**, Karachi, v. 40, n. 1, p. 397-401, 2008(b). Disponível em: <[www.pakbs.org/pjbot/PDFs/40\(1\)/PJB40\(1\)397.pdf](http://www.pakbs.org/pjbot/PDFs/40(1)/PJB40(1)397.pdf)> Acesso em: 30 out. 2009.

NOGUEIRA, E. M. de C. Principais doenças da bananeira – IN: VI REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO – BANANA, 2002, SÃO BENTO DO SAPUCAÍ. São Bento do Sapucaí, SP, 2002, **Anais...** Instituto Biológico, 2002.

PADOLE L.; THAKKAR, P. Neem use and potential in agriculture. **Neem Foundation**, Mumbai, 2009. Disponível em: <<http://www.neemfoundation.org/neem-articles/neem-in-organic-farming/agricultural-usepotential.pdf>> Acesso em: 18 de out. de 2009.

PIGNONI, E.; CARNEIRO, S. M. T. P. G. Severidade da antracnose em feijoeiro e pinta preta em tomateiro sob diferentes concentrações de óleo de Nim em casa de vegetação. **Revista Brasileira Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 1, p. 68 – 72, 2005.

PLOETZ, R.C.; THOMAS, J.E.; SLABAUGH, W.R. Diseases of banana and plantain. In: PLOETZ, R.C. (ed). **Disease of tropical fruit crops**. CABI: Wallingford, p. 73-134. 2003.

RAMOS, L. L. F. et al. Neem (*Azadirachta indica* a. Juss) components: Candidates for the control of *Crinipellis pernicioso* and *Phytophthora* ssp. **Microbiological Research** v. 162, n. 3, p. 238-243, 2007.

SADEGHIAN, M. M.; MORTAZAIENEZHAD, F. Investigation of compounds from *Azadirachta indica* (Neem). **Asian Journal of Plant Sciences**, Faisalabad,

v. 6, n 2, p. 444-445, 2007. Disponível em:
<<http://docsdrive.com/pdfs/ansinet/ajps/2007/444-445.pdf>> Acesso em: 12 de jan. 2010.

SAES, L. A.; NOMURA, E. S.; GARCIA, V. A. Cultivares resistentes de bananeira - IN: XIII REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO-BANANA, 2005, REGISTRO-SP. São Paulo, 2005, **Anais...** São Paulo, Instituto Biológico, 2005, p. 51-58.

SANTOS, M. G. **Técnica de extração de clamidósporos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense***. 25 f. 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2008.

SEAPA - **SECRETARIA DE ESTADO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO**, Belo Horizonte, 2008. Banana: produção em minas volta a crescer. Disponível em: <<http://www.agricultura.mg.gov.br/vimpressao.asp?id=941>> Acesso em: 10 de dez. 2009.

SHARMA, B.; KUMAR, P. *In vitro* antifungal potency of some plant extracts against *Fusarium oxysporum*. **International Journal of green Pharmacy**, Mandsaur, 2009.
Disponível em: <<http://www.greenpharmacy.infoonSaturday,October17,2009>>
Acesso em: 17 out. de 2009.

SILVA, G. S. da; PEREIRA, A. L. Efeito da incorporação de folhas de Nim ao solo sobre o complexo *Fusarium* x *Meloigogyne*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 34, n. 4, p. 368-370, 2008.

SILVA, L. S. **Avaliação da eficiência do óleo de Nim no manejo do mal-do-panamá**. 2006. 26p. monografia (Graduação em agronomia) – Universidade Estadual de Montes Claros, Janaúba, 2006.

SMOLINSKA, U.; KNUDSEN, G. R.; JAMES, R. L. Isothiocyanates Produced by Brassicaceae Species as Inhibitors of *Fusarium oxysporum*. **Plant disease**, St. Paul, v. 87, p. 407-412, 2003.

SOUZA JUNIOR, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 22, n. 3, p. 77-83, 2009.

VENTURA, J. A.; HINZ, R. H. Controle das doenças da bananeira. In: ZAMBOLIM, Laércio et al. (Ed). **Controle de Doenças de Plantas: fruteiras**. Viçosa: [s.n.], 2002, v. 2, cap. 14, p. 839-906.

VERMA, V. et al. Endophytic actinomycetes from *Azadirachta indica* A. Juss.: Isolation, diversity, and anti-microbial activity. **Microbial Ecology**, New York, v. 57, n. 4, 2009. Disponível em:
<<http://www.ingentaconnect.com/content/klu/248/2009/00000057/00000004/00009450>> Acesso em: 06 de jan. 2010.

VIANA, P. A.; PRATES, H. T.; RIBEIRO, E. de A. Uso do extrato aquoso de Nim para o controle de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho. **Circular Técnica 88**. Sete Lagoas, 2006.

ZHAO, Z. et al. Study of the antifungal activity of *Bacillus vallismortis* ZZ185 in vitro and identification of its antifungal components. **Bioresource Technology**, Palampur, 2009. Disponível em:
<<http://www.citeulike.org/article/5692530>> Acesso em: 22 out. de 2009.

8 ANEXOS

TABELA 1. Teores de nutrientes presentes nas folhas de Nim (*Azadiractha indica*).

.....Composição Química.....											
..... Dag/kg.....					Mg/kg.....					
N ¹	P ²	K ²	S ²	Ca ²	Mg ²	B ³	Cu ²	Fe ²	Mn ²	Zn ²	Na ²
2,79	0,18	1,79	0,27	1,30	0,48	33,85	5,0	96,6	24,61	13,91	49,94