

# Atividade Antifúngica de Extratos de Alho e Capim-Santo sobre o Desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* Isolado de Grãos de Milho

Anne E.F. Souza, Egberto Araújo & Luciana C. Nascimento

Departamento Fitotecnia, Centro de Ciências Agrárias, Campus II, Universidade Federal da Paraíba, CEP 58.397-000, Areia, PB, Brasil, e-mail: luciana.cordeiro@cca.ufpb.br

Autor para correspondência: Luciana Cordeiro do Nascimento

---

SOUZA, A.E.F., ARAÚJO, E. & NASCIMENTO, L.C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. Fitopatologia Brasileira 32:465-471. 2007.

## RESUMO

Dentre os patógenos veiculados pelas sementes e grãos do milho (*Zea mays* L.), *Fusarium proliferatum* causa tombamento e morte de plântulas, podridão de raízes, de colmo, de espiga e grãos. Assim, o tratamento de sementes mostra-se como importante medida para preservar a qualidade. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a atividade antifúngica de diferentes concentrações dos extratos de alho (*Allium sativum* L.) e capim-santo (*Cymbopogon citratus* Stapf.) visando o controle de *F. proliferatum* em sementes de milho e observar os efeitos dos tratamentos sobre a germinação de sementes, sanidade e desenvolvimento das plântulas. A partir de grãos de milho, foi feito o isolamento de *F. proliferatum*, que foi cultivado em meio BDA. Foram avaliados os efeitos dos extratos de alho e capim santo sobre crescimento micelial, nas concentrações 0,5%, 1,0%, 2,5%, 5,0% e 10,0%, medindo-se os diâmetros das colônias do fungo durante oito dias. Esporos de *F. proliferatum* foram imersos em soluções dos extratos, nas concentrações mencionadas, e avaliados, quanto à germinação de conídios, às 6, 12, 18 e 24 horas de imersão. Sementes de milho foram tratadas em soluções dos extratos e inoculadas com *F. proliferatum*, sendo avaliada quanto à incidência do fungo, percentagem de germinação e incidência de tombamento e podridão do colmo das plântulas. Os extratos empregados reduziram a taxa de crescimento micelial e a germinação dos esporos, como também a incidência de *F. proliferatum* em grãos de milho. O extrato de alho, a partir da concentração 2,5%, mostrou maior eficiência em relação aos demais tratamentos. Os produtos vegetais aumentaram a germinação das sementes e também controlaram o tombamento e a podridão do colmo das plântulas de milho.

**Palavras-chave adicionais:** *Zea mays*, *Allium sativum*, *Cymbopogon citratus*, tratamento de sementes, extratos vegetais, atividade antifúngica.

## ABSTRACT

### Antifungal activity of garlic and lemon grass extracts on the development of *Fusarium proliferatum* isolated from maize grain

Among pathogens causing diseases in *Zea mays* L., *Fusarium proliferatum*, disseminated by seeds and grain, causes deterioration, death, damping off, rot of roots, stem, stalk and grains. It is thus imperative to treat seeds and grain to preserve quality. The objective of this work was to test antifungal activity at different levels of *Allium sativum* L. and *Cymbopogon citratus* Stapf. extracts for *F. proliferatum* control on maize seeds and grain, and also to observe the effect of those products on seed germination and disease development and evolution in maize seedlings. The effect of *A. sativum* and *C. citratus* extracts was evaluated at levels of 0.5%, 1.0%, 2.5%, 5.0% and 10.0% for eight days, measuring the colonies' diameter. Fungus spores were immersed in extract solution at the levels described above, and were evaluated after 6, 12, 18 and 24 immersion hours for conidia germination. Maize seeds were treated with extract solution and inoculated with *F. proliferatum*, then evaluated for fungus survival, germination, damping off and stem rot of plantlets. Extracts decreased mycelial growth, spore germination and survival incidence of *F. proliferatum* on maize grain. *Allium* extract at 2,5% showed better results than other treatments. Natural extracts increased seed germination and controlled damping off and stem rot diseases in maize seedlings.

**Additional keywords:** *Zea mays*, *Allium sativum*, *Cymbopogon citratus*, seed treatment, natural extracts, antifungal activity.

---

## INTRODUÇÃO

A cultura do milho (*Zea mays* L.) é amplamente difundida em nosso país, sendo esse cereal plantado em

regiões que diferem bastante entre si. O ambiente é um dos fatores determinantes para a ocorrência de doenças, sendo vários os fitopatógenos que ocorrem em sementes e grãos dessa cultura.

Segundo Tanaka *et al.* (2001), espécies de fungos dos gêneros *Aspergillus*, *Fusarium* e *Penicillium*, ocorrem em sementes de milho durante e/ou após a maturação e, dependendo das condições de temperatura e umidade, podem

---

Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor. Universidade Federal da Paraíba. Areia PB. 2007.

se desenvolver e provocar danos durante o armazenamento, reduzindo a germinação e o vigor dessas sementes e a qualidade dos grãos, situação essa que requer a adoção de medidas de controle. A espécie *F. proliferatum* (Matsush.) Nirenberg ex Gerlach & Nirenberg é um fungo veiculado pelas sementes e grãos de milho, causando deterioração dos mesmos, morte e tombamento de plântulas, podridão de radículas, de colmo, da espiga e dos grãos.

Nas últimas décadas, o controle das doenças e pragas na agricultura tem se intensificado, sendo realizado basicamente através do emprego de produtos sintéticos, com elevados custos e riscos ambientais (desequilíbrio ecológico) e toxicológicos (elevada concentração nos alimentos). A busca de substitutos para estes produtos encontra nas plantas uma alternativa de interesse econômico e ecológico bastante promissor. O uso de extratos vegetais e óleos essenciais, por exemplo, têm sido fonte de inúmeras pesquisas que validam sua eficácia (Hernandez *et al.*, 1998; Owolade *et al.*, 2000; Souza *et al.*, 2002; Morais, 2004).

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a atividade antifúngica dos extratos de alho (*Allium sativum* L.) e capim-santo (*Cymbopogon citratus* Stapf.) sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho, e o efeito desses produtos sobre a germinação de sementes e desenvolvimento e evolução de doença em plântulas de milho.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios de Fitopatologia, de Microbiologia e de Análise de Sementes do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCA/UFPB) em Areia PB, no período compreendido entre fevereiro a outubro de 2006. Os extratos vegetais foram preparados no Laboratório de Farmacotécnica do Departamento de Farmácia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual da Paraíba (CCBS/UEPB) em Campina Grande PB, em abril de 2006.

### Isolamento e cultivo de *F. proliferatum*

*F. proliferatum* foi obtido de 200 grãos de milho comercial, sendo estes provenientes de campos de produção localizados no município de Alagoinha PB, colhidos na safra 2004/2005. A identificação foi com base em observações microscópicas de estruturas como micélio e esporos, em microscópio óptico, confrontando-as com as descrições da literatura micológica e fitopatológica. (Nelson *et al.*, 1993; Carlile & Watkinson, 1996; Carneiro, 1996; Burgess *et al.*, 1998; Fisher & Cook, 2001).

### Obtenção dos extratos vegetais

Os extratos hidroalcoólicos de alho, produzido na Fazenda Chã de Jardim (CCA/UFPB), em Areia PB, e os de capim-santo, produzido no Horto de Plantas Medicinais da Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba

S/A (EMEPA), em Lagoa Seca PB, foram obtidos através do emprego da técnica da maceração, com etanol absoluto, conforme metodologia específica descrita na Farmacopéia dos Estados Unidos do Brasil (1959).

### Efeito de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *F. proliferatum*

Foram empregados os seguintes tratamentos: T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> e T<sub>5</sub>, que correspondem, respectivamente, aos extratos hidro-alcoólicos de alho a 0,5%, 1,0%, 2,5%, 5,0% e 10,0% e T<sub>6</sub>, T<sub>7</sub>, T<sub>8</sub>, T<sub>9</sub> e T<sub>10</sub>, correspondendo, respectivamente, aos extratos hidro-alcoólicos de capim santo, além de T<sub>11</sub>: Testemunha (controle: fungo + meio de cultura).

O meio de cultura utilizado nos experimentos foi batata-dextrose-agar (BDA), adicionando-se, após esterilização, a quantidade do extrato vegetal de modo a se obter o meio com as diferentes concentrações dos produtos a serem avaliados. Efetuou-se repicagem de um disco micelial (5 mm de diâmetro) de *F. proliferatum* no centro da superfície do meio de cultura com os respectivos tratamentos. As placas foram mantidas em temperatura ambiente (25 ± 2°C) e fotoperíodo de 12 horas, sendo a avaliação do crescimento micelial realizada a cada 24 horas, durante oito dias, tendo sido mensurado o diâmetro da colônia em sentidos perpendicularmente opostos.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em arranjo fatorial (2 x 5 + 1), sendo dois tipos de extratos vegetais, em cinco concentrações + a testemunha, com quatro repetições. Os dados deste experimento foram plotados para obtenção de uma equação de regressão linear simples ( $y = a + bx$ ), conforme procederam Benício *et al.* (2003), sendo o tempo (dias) a variável independente (x); o crescimento micelial (diâmetro final das colônias, cm) a variável dependente (y); e 'a' o diâmetro inicial das colônias. A taxa de crescimento micelial foi determinada pelo coeficiente de regressão (b), sendo as médias comparadas entre si pelo Teste de Dunnett a 5% de probabilidade. O processamento estatístico dos dados foi realizado utilizando-se o software SAEG 7.0 (1997) e o programa SAS (1992).

### Efeitos dos extratos vegetais na germinação de esporos de *F. proliferatum*

A suspensão de esporos (10<sup>7</sup> conídios/mL) foi obtida a partir de colônias puras desenvolvidas durante oito dias em meio BDA contido em placas de Petri, sobre as quais foi adicionado 20mL de água destilada esterilizada e, com o auxílio de escova de cerdas macias, sucedeu-se a raspagem das colônias. Na seqüência, procedeu-se a filtragem (através de duas camadas de gaze esterilizada), e transferência dessa suspensão para tubos de ensaio, que foram devidamente vedados e incubados à temperatura ambiente (25 ± 2°C). A concentração dos esporos foi determinada através de contagem em Câmara de Neubauer.

Em tubos de ensaio, adicionaram-se 2 ml da suspensão de esporos acrescido de 15µL, 30µL, 50µL, 100µL e 200µL dos extratos vegetais, de tal maneira a se

obter, respectivamente, as cinco concentrações a serem testadas: 0,5%, 1,0%, 2,5%, 5,0%, 10,0%. Como testemunha, foi utilizado apenas 2 mL da suspensão de esporos, sem o acréscimo de extratos. Após 6, 12, 18 e 24 horas de incubação dos esporos em imersão a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , retirou-se 50  $\mu\text{L}$  de cada tubo, a partir do qual se realizou a contagem dos esporos germinados e não germinados, sob microscópio óptico.

#### **Efeitos dos extratos vegetais sobre a incidência de *F. proliferatum* em sementes de milho inoculadas artificialmente**

Sementes de milho, variedade Sertanejo, foram pré-tratadas em solução de hipoclorito de sódio 2,5% por 5 minutos. Esse material foi subdividido em 11 amostras, cada uma com 200 sementes, que foram imersas, separadamente, em soluções correspondentes aos tratamentos anteriormente descritos, durante 10 minutos, postas para secar sobre papel de filtro esterilizado, por 30 minutos. Em seguida, as amostras tratadas foram imersas, separadamente, em uma suspensão de esporos de *F. proliferatum* ( $1,00 \times 10^7$  conídios/mL), durante 10 minutos e incubadas pelo emprego do método Blotter-test. No oitavo dia de incubação, as sementes foram observadas sob microscópio estereoscópio e óptico, para determinação da incidência de *F. proliferatum*.

#### **Efeitos de extratos sobre a germinação de sementes de milho inoculadas artificialmente com *F. proliferatum***

As sementes de milho da variedade Sertanejo foram obtidas na Usina de Beneficiamento de Sementes da Estação Experimental de Alagoinha PB, pertencente à Empresa Estadual de Pesquisa Agropecuária da Paraíba S.A. (EMEPA). As sementes foram previamente desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 2,5% por 5 minutos e tratadas com os extratos e respectivas concentrações, com subsequente imersão na suspensão de esporos de *F. proliferatum* ( $1,00 \times 10^7$  conídios/mL), conforme descrito no item anterior. Após o tratamento das sementes, realizou-se, em laboratório, o teste padrão de germinação (BRASIL, 1992).

Para os três experimentos (germinação de esporos, incidência de *F. proliferatum* nas sementes inoculadas e germinação de sementes de milho) empregou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento. Os resultados, expressos em porcentagem, foram analisados por Modelos Lineares Generalizados, com comparação de médias pelo Teste Qui-Quadrado ( $X^2$ ) a 1% de probabilidade. Empregou-se arranjo fatorial ( $2 \times 5 + 1$ ), sendo dois tipos de extratos vegetais, testados em cinco concentrações + testemunha. O processamento estatístico dos dados foi realizado utilizando-se o software SAEG 7.0 (1997) e o programa SAS (1992).

#### **Desenvolvimento de plântulas a partir de sementes inoculadas artificialmente com *F. proliferatum* e tratadas com extratos vegetais**

As sementes de milho da variedade Sertanejo, após desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 2,5% por 5

minutos, foram tratadas com extratos vegetais e inoculadas artificialmente com a suspensão de *F. proliferatum*. A seguir, foram semeadas em número de três sementes por saco de polietileno preto contendo solo esterilizado e mantidas na casa de vegetação do Setor de Fitossanidade do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba (CCA/UFPB), em Areia-PB. Foram realizadas avaliações diárias para verificação da emergência e ocorrência de tombamento, apodrecimento do colmo e morte das plântulas. O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo os dados analisados pelos Modelos Lineares Generalizados e empregando-se o Teste Qui-Quadrado ( $X^2$ ), a 1% de probabilidade, para comparação das médias. O processamento estatístico dos dados foi realizado utilizando-se o software SAEG 7.0 (1997) e o programa SAS (1992).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Análise sanitária dos grãos de milho**

Nos grãos de milho incubados pelo método Blotter-test, foram observados fungos dos gêneros *Penicillium* spp. (39,5%), *F. proliferatum* (30,0%), *Aspergillus* spp. (10,0%), *Rhizopus* sp. (6,5%), *Monilia* sp. (5,0%) e *Cladosporium* spp. (4,5%) (Figura 1). *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., considerados fungos de armazenamento, além de deteriorarem grãos e sementes, são produtores de micotoxinas (Athié *et al.*, 1998; Terra, 2005). Esses microorganismos são frequentemente relatados em levantamentos realizados com sementes e grãos de milho, como nos estudos de Von Pinho *et al.* (1995), Carneiro (1996) e Soares (2004). *Cladosporium* spp. e *Fusarium proliferatum* são considerados patógenos de várias culturas. Em BDA, observam-se macroscopicamente as variações na coloração do micélio das colônias, de rosa para violeta, além das observações microscópicas de produção, por parte do *F. proliferatum*, de microconídios em cadeias ou raramente em falsas cabeças, de forma que essas são as principais características que distinguem essa espécie das demais do gênero *Fusarium* (Nelson *et al.*, 1993; Burgess *et al.*, 1998). Em sementes e grãos de milho, *F. proliferatum* pode causar redução da capacidade germinativa e do peso, descoloração ou formação de manchas, apodrecimento, mofo, transformações bioquímicas e produção de micotoxinas. Esse fungo ainda pode provocar tombamento de plântulas e podridão de raízes e colmo, entre outros (Lucca Filho, 1987; Nagaraj *et al.*, 1994; Abbas *et al.*, 1999).

### **Crescimento micelial de *F. proliferatum***

Em todos os tratamentos estudados foi observado o crescimento vegetativo do *F. proliferatum*, porém com diferenças na velocidade desse crescimento e no diâmetro máximo das colônias, em função do extrato e das concentrações empregadas. O maior crescimento do *F. proliferatum* foi observado na testemunha (T11), seguido dos tratamentos onde empregou-se extrato de alho a 0,5% (T1)

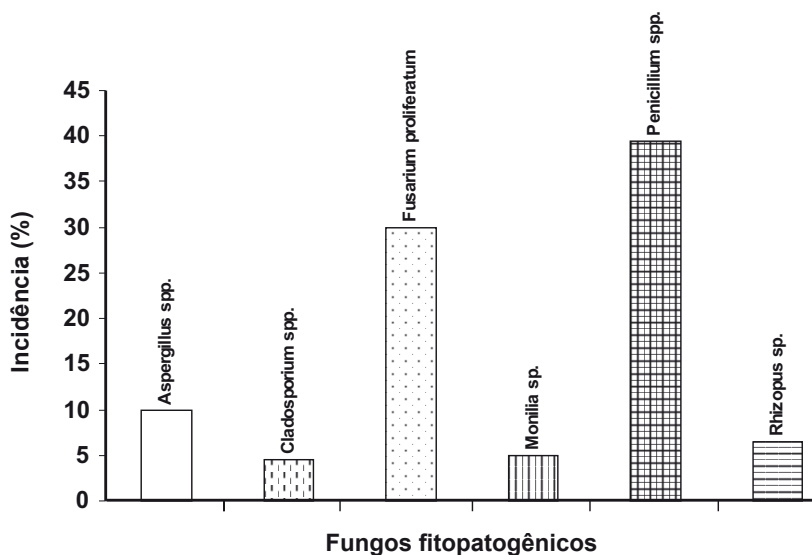


FIG. 1 - Incidência de fungos isolados de grãos de milho.

e capim santo a 0,5% (T6). Os menores crescimentos foram nos tratamentos T5 (alho a 10%) e T4 (alho a 5%), onde se registraram os menores diâmetros das colônias (Tabela 1).

Estudos de avaliação do efeito de extratos vegetais e/ou óleos essenciais de alho e capim santo, sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos, incluindo o *F. proliferatum* em milho, mostraram que esses produtos podem inibir ou até suprimir o desenvolvimento desses microorganismos (Hernandez *et al.*, 1998; Owolade *et al.*, 2000), o que também foi observado no presente estudo, onde todas as concentrações avaliadas reduziram o crescimento do *F. proliferatum*, sendo a maior eficiência observada nas concentrações de 2,5%, 5,0%, 10,0%. Os resultados obtidos estão de acordo com as avaliações de outros autores, para esta e outras espécies fúngicas, nas quais verificou-se ocorrer maior inibição do crescimento micelial com o emprego das maiores concentrações dos extratos vegetais (Chalfoun & Carvalho, 1987; Lima *et al.*, 1996).

#### Germinação de esporos de *Fusarium proliferatum*

Foram observados decréscimos nos percentuais de germinação dos esporos de *F. proliferatum* em função do aumento das concentrações dos extratos e do tempo de imersão dos esporos nessas soluções. Na Tabela 1 verifica-se que nas concentrações 0,5% e 1,0% não apresentaram diferenças estatísticas entre os dois extratos. As concentrações de 2,5%, 5,0% e 10,0% do extrato de alho foram as mais eficazes quando comparados ao extrato de capim santo.

Emprego de extratos aquosos, hidroalcoólicos e etanólicos e óleos essenciais de alho mostram o efeito inibitório deste sobre a germinação de esporos de *F. oxysporum* (Morais, 2004) e os extratos etanólicos e óleo

essencial de capim santo inibiram o crescimento micelial e a germinação de esporos de *Fusarium* spp. (Bolkan e Ribeiro, 1991; Cruz *et al.*, 1997).

#### Incidência de *F. proliferatum* em sementes de milho inoculadas artificialmente

Além do *F. proliferatum*, também foram observados, nas sementes tratadas, os fungos de armazenamento *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. e *Rhizopus* sp., com incidências inferiores a 10%. No controle do *F. proliferatum*, os extratos vegetais promoveram redução da incidência deste fungo, tendo este efeito pronunciado-se mais acentuadamente com o emprego das maiores concentrações dos extratos. Nas concentrações 5,0% e 10,0% do extrato de alho, os percentuais de incidência foram estatisticamente iguais entre si e superiores às demais concentrações. Para o extrato de capim santo, os percentuais de incidência fúngica nas concentrações de 2,5%, 5,0% e 10,0% foram estatisticamente iguais entre si e inferiores às concentrações 0,5% e 1,0% (Tabela 2).

Conforme Medina *et al.* (1995) e Luz (1996), o tratamento de sementes tem sido efetivo reduzindo a incidência de fungos e preservando-lhes o poder germinativo. Os resultados do presente estudo estão de acordo com Chalfoun e Carvalho (1987), Souza *et al.* (2002) e Moraes (2004), que comprovaram semelhante eficiência do extrato de alho no controle de *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. e *Rhizopus* sp., e na preservação da qualidade fisiológica de sementes de milho.

#### Germinação de sementes de milho inoculadas artificialmente com *F. proliferatum*

Na Tabela 2, observa-se que não houve

**TABELA 1** - Crescimento micelial e germinação de esporos de *Fusarium proliferatum* mediante tratamento com extratos vegetais de alho e capim santo em diferentes concentrações

Concentrações/Extratos	Crescimento micelial (cm) <sup>1</sup>		Germinação de esporos (%) <sup>*2</sup>	
	Alho	Capim-santo	Alho	Capim-santo
0,5%	0,83 fA*	0,83 fA	14,6 cdA	19,4 dA
1,0%	0,82 efA	0,77 defA	12,3 bcA	15,1 cdA
2,5%	0,61 bA	0,74 cdeB	9,0 abA	14,6 cdB
5,0%	0,60 bA	0,70 cdB	5,7 aA	12,3 bcB
10,0%	0,35 aA	0,68 bcB	4,4 aA	8,3 abA
Testemunha	0,91 g	0,91 g	44,9 e	44,9 e
	D.M.S. = 0,0838		D.M.S. = 4,8	
	C.V. (%) 5,3		C.V. (%) 5,6	

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo Teste de Dunnett (Pr<0,05)

\*Média de germinação após 24 horas de imersão nos extratos.

$$^1 \text{Equações de regressão para crescimento micelial: } Y_{\text{Alho}} = 0,8648 - 0,0521x$$

$$Y_{\text{Capim Santo}} = 0,7938 - 0,0127x$$

$$^2 \text{Equações de regressão para germinação de esporos: } Y_A = \frac{\exp(0,3278 - 0,2177.C + 0,0114.C^2 - 0,0896.H)}{1 + (0,3278 - 0,2177.C + 0,0114.C^2 - 0,0896.H)}$$

$$Y_{CS} = \frac{\exp(-0,0596 - 0,1627.C + 0,0081.C^2 - 0,0578.H)}{1 + (-0,0596 - 0,1627.C + 0,0081.C^2 - 0,0578.H)}$$

**TABELA 2** - Incidência de *F. proliferatum* e germinação de sementes de milho inoculadas artificialmente e tratadas em extratos vegetais de alho e capim santo em diferentes concentrações

Concentrações/Extratos	Incidência de <i>F. proliferatum</i> (%)		Germinação de sementes (%)	
	Alho	Capim-santo	Alho	Capim-santo
0,5%	10,5 cdA*	18,5 eB	71,0 abA	53,0 cB
1,0%	9,5 cdA	18,0 eB	73,0 abA	55,0 cB
2,5%	8,0 bcdA	11,5 dA	75,0 abA	68,0 bA
5,0%	4,5 abA	9,0 cdB	77,0 aA	73,0 abA
10,0%	3,5 aA	7,5 bcB	79,0 aA	77,0 aA
Testemunha	86,0 f	86,0 f	57,0 c	57,0 c
	D.M.S. = 3,9		D.M.S. = 8,0	
	C.V. (%) 5,9		C.V. (%) 4,7	

\*Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo Teste Qui-Quadrado X<sup>2</sup> (Pr<0,01).

diferenças significativas no emprego das cinco diferentes concentrações do extrato de alho e que todos os tratamentos foram superiores à testemunha, exceto os que empregaram capim santo nas concentrações 0,5% e 1,0%. Os resultados demonstraram um potencial fungitóxico satisfatório dos produtos vegetais testados, quando comparados à testemunha. O extrato de alho a 10,0% promoveu maior redução na incidência de *F. proliferatum*, seguido dos tratamentos que empregaram os extratos de alho a 5,0% e 2,5% e de capim santo a 10,0% e 5,0%. Os tratamentos que proporcionaram menor redução na incidência do

patógeno foram os de extrato de capim a 0,5% e 1,0%.

Os tratamentos com alho a 0,5% e 1,0% foram estatisticamente superiores aos tratamentos com capim santo nas mesmas concentrações, seguindo, portanto, a mesma tendência dos resultados encontrados nos ensaios de crescimento micelial, germinação de esporos e incidência de *F. proliferatum* em sementes artificialmente infestadas. Assim observa-se que o emprego dos extratos, nas maiores concentrações, reduziram a incidência do *F. proliferatum* e aumentaram a germinação das sementes. Dentro dos padrões recomendados pela CESM-PB (1989),

a média de germinação de sementes de milho deve estar em torno de 75%, resultado que foi alcançado e superado pela maioria dos tratamentos aplicados neste experimento.

Os estudos de Khan & Kumar (1993) e Souza et al. (2002) mostraram que o emprego de extratos de plantas medicinais no tratamento prévio de sementes promoveu redução da micoflora e aumento do poder germinativo das mesmas. A importância da utilização de produtos naturais no tratamento de sementes é ressaltada por Von Pinho et al. (1995), que enfatizam o emprego de plantas com comprovadas atividades antimicrobianas na forma de extratos e óleos essenciais. Carvalho et al. (1999) afirmam que sementes predispostas à ação de microorganismos, quando tratadas, reduzem a capacidade de sobrevivência dos fitopatógenos e potencializam e alongam a vida das sementes, seu poder germinativo e o vigor das futuras plantas.

### Desenvolvimento de plântulas de milho a partir de sementes inoculadas com *F. proliferatum* e tratadas com extratos vegetais

Todos os tratamentos avaliados diferiram da testemunha. Os menores percentuais de podridão do colmo e de tombamento de plântulas, foram observados no tratamento que empregou extrato de alho nas concentrações de 10,0% e 5,0% (Tabela 3). A menor eficiência foi observada nos tratamentos que empregaram extrato de capim santo nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 2,5%. Em todas as concentrações avaliadas, o extrato de alho foi o mais eficiente no controle do *F. proliferatum* nas plântulas de milho, promovendo menor incidência de tombamento e de morte.

As podridões do colmo das plântulas e a infecção dos grãos de milho são causadas por diferentes fungos, sendo que o mais importante é o *F. proliferatum*, causador de danos nas plantas, no final do ciclo, onde infectam e apodrecem as espigas, reduzem o peso dos grãos e os contaminam com micotoxinas (Athié et al., 1998). Segundo Hermanns et

**TABELA 3**- Percentagem de plântulas sintomáticas (apodrecimento do colo e tombamento) originadas de sementes inoculadas com conídios de *F. proliferatum* e tratadas com extrato de alho e capim santo

Concentrações/ Extratos	Plântulas sintomáticas (%)	
	Alho	Capim-santo
0,5%	18,7 deA	20,8 fB
1,0%	18,7 deA	20,8 fB
2,5%	15,6 cA	19,8 efB
5,0%	12,3 bA	17,7 cdB
10,0%	9,3 aA	15,7 cB
Testemunha	22,9 g	22,9 g
D.M.S. = 2,0		
C.V. (%) 5,1		

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúsculas nas linhas não diferem entre si pelo Teste Qui-Quadrado  $X^2$  ( $Pr < 0,01$ ).

al. (2006), *Fusarium* sp., *F. oxysporum*, *F. proliferatum* e *Colletotrichum* sp. causaram, após 10 dias, a morte das plantas devido ao apodrecimento do sistema radicular ou tombamento da parte aérea de plântulas de milho. Os resultados deste ensaio demonstraram que a aplicação de extratos vegetais no tratamento prévio de sementes de milho reduziu a mortalidade e a infecção das plântulas por *Fusarium proliferatum*.

### AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES pelo apoio concedido através da bolsa de pesquisa.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBAS, H.K., CARTWRIGHT, R.D., XIE, W., MIROCHA, C.J., RICHARD, J.L., DVORAK, T.J., SCIUMBATO, G.L. & SHIER, W.T. Mycotoxin production by *Fusarium proliferatum* isolates from rice with *Fusarium* sheath rot disease. *Mycopathologia* 147:97-104. 1999.
- ATHIÉ, I., CASTRO, M.F.P.M., GOMES, R.A.R. & VALENTINI, S.R.T. Conservação de grãos. Campinas SP. Fundação Cargill. 1998.
- BENICIO, V., ARAÚJO, E., SOUTO, F.M., BENICIO, M.J. & FELISMINO, D.C. Identificação e características culturais de espécies do gênero *Aspergillus* isoladas de sementes de feijão no Estado da Paraíba. *Fitopatologia Brasileira* 28:183-183. 2003.
- BOLKAN, H.A. & RIBEIRO, W.R.C. Efeito do extrato e de óleos de alho em *Cylindrocladium clavatum*, *Fusarium moniliforme* var. *subglutinans* e *Rhizoctonia solani*. *Fitopatologia Brasileira* 6:565-566. 1991.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Departamento de Produção Vegetal, Divisão de Sementes e Mudanças. Regras para Análises de Sementes (RAS). Programa Brasileiro de Qualidade e Produtividade (PBQP). Brasília: Coordenação de Laboratório Vegetal, SNDA/DNDV/CLAV. 1992.
- BURGESS, L.W., LIDDELL, C.M. & SUMMERELL, B. Laboratory manual for *Fusarium* research. 2. ed. Sydney. University of Sydney. 1998.
- CARLILE, M. & WATKINSON, S.C. The fungi: structures and identification. London. Academic Press. 1996.
- CARNEIRO, J.S. Micoflora associada a sementes. *Fitopatologia Brasileira* 11:557-567. 1996.
- CARVALHO, R.A., CHOAIRY, S.A., LACERDA, J.T. & OLIVEIRA, E.F. Effect of plants with antibiotic properties on the control of *Fusarium* sp. Abstracts, International Plant Protection Congress, Israel. 1999. p. 28.
- CESM-PB, Comissão Estadual de Sementes e Mudanças da Paraíba. Normas técnicas para a produção de sementes e mudas fiscalizadas. João Pessoa PB. 1989.
- CHALFOUN, S.M. & CARVALHO, V.D. Efeito de óleo e de extrato de alho sobre o desenvolvimento de fungos. *Fitopatologia Brasileira* 12:234-235. 1987.

- CRUZ, M.E.S., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIN, J.R. & PASCHOLATI, S.F. Efeito do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim limão) no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. *Summa Phytopathologica* 23:63-65. 1997.
- FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 2.ed. São Paulo SP. Siqueira. 1959.
- FISHER, F. & COOK, N.B. *Micologia: Fundamentos e Diagnóstico*. Rio de Janeiro RJ. Revinter. 2001.
- HERMANN, G., PINTO, F.T. & KITAZAWA, S.E. Fungos e fumonisin no período pré-colheita do milho. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 26:7-10. 2006.
- HERNANDEZ, A.A.M., ROSAS, R.M., AGUILERA, P. M.M. & LAGUNES, T.A. Use of plant and mineral powders as an alternative for the control of fungi in stored maize grain. *Agrociencia* 32:75-79. 1998.
- KHAN, M.I. & KUMAR, R. Antifungal activity of leaf extracts of neem on seed mycoflora of wheat. *Seed Pathology and Microbiology* 5:13-14. 1993.
- LIMA, G.S.A., LIMA, N.M.F. & LOPEZ, A.M.Q. Efeito de extratos aquosos de alho (*Allium sativum*) sobre a germinação e o crescimento micelial in vitro de *Botryodiplodia theobromae* Pat. *Ciência Agrícola* 4:1-9. 1996.
- LUCCA FILHO, O.A. Testes de sanidade de sementes de milho. In: Soave, J. & Wetzell, M.M.V.S. (Eds.) *Patologia de sementes*. Campinas SP. Cargill. 1987. pp. 430-440.
- LUZ, W.C. Diagnóstico e controle das doenças da espiga de milho no Brasil. Passo Fundo RS. EMBRAPA. 1995.
- MEDINA, P.F., RAZERA, F.L. & ROSSETO, C.J. Armazenamento de sementes tratadas com inseticidas e fungicidas. *Revista Brasileira de Sementes* 17:236-242. 1995.
- MORAES, M.H.D. Análise sanitária de sementes tratadas. Resumos, VIII Simposio Brasileiro de Patologia de Sementes. João Pessoa PB. 2004. pp. 12.
- MORAIS, M.S. Efeito de dois extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* e da incidência da murcha em feijão-vagem. Dissertação de Mestrado. Areia PB. Universidade Federal da Paraíba. 2004.
- NAGARAJ, R., WU, W. & VESONDER, R.F. Toxicity of corn culture material of *Fusarium proliferatum* M-7176 and nutritional intervention in chicks. *Poultry Science* 73:617-626. 1994.
- NELSON, P.E., TOUSSOUN, T.A. & MARASAS, W.F.O. *Fusarium species: an illustrated manual for identification*. The Pennsylvania State University Press. 1993.
- OWOLADE, O.F., AMUSA, A.N. & OSIKANLU, Y.O.Q. Efficacy of certain indigenous plant extracts against seed-borne infection of *Fusarium moniliforme* on maize (*Zea mays* L.) in south western Nigeria. *Cereal Research Communications* 28:323-27. 2000.
- SAEG. Sistema para análises estatísticas. Versão 7.0. Viçosa MG. Fundação Arthur Bernardes. 1997.
- SAS Institute. SAS Technical Report. SAS/STAT software: Changes and Enhancement, Release 6.07, Cary NC: SAS Institute. 1992.
- SOARES, C.S., BRUNO, R.L.A., SILVA, I.F. & BRUNO, G.B. Micoflora das sementes de milho (*Zea mays* L.) produzidas em diferentes sistemas de cultivo. Resumos, VIII Simposio Brasileiro de Patologia de Sementes. João Pessoa PB. 2004. pp. 15.
- SOUZA, M.A.A., BORGES, R.S.O.S., STARK, M.L.M. & SOUZA, S.R. Efeito de extratos aquosos, metanólicos e etanólicos de plantas medicinais sobre a germinação de sementes de alface e sobre o desenvolvimento micelial de fungos fitopatogênicos de interesse agrícola. *Revista Universidade Rural* 22:181-185. 2002.
- TANAKA, M.A.S., MAEDA, J.A. & PLAZAS, I.H.A.Z. Microflora fúngica de sementes de milho em ambientes de armazenamento. *Scientia Agrícola* 58:501-508. 2001.
- TERRA, B. Mantendo a qualidade do grão durante a colheita. São Paulo SP. Administração Rural. 2005.
- VON PINHO, E.V.R., SILVEIRA, J.F., VIEIRA, M.G.C. & FRAGA, A.C. Influência do tamanho e do tratamento de sementes de milho na preservação da qualidade durante o armazenamento e posterior comportamento no campo. *Ciência e Prática* 19:21-27. 1995.

---

Recebido 9 Abril 2007 - Aceito 11 Dezembro 2007 - FB 7038