



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS – CCA
CURSO DE BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**



JOÃO ELIAS MOREIRA FILHO

**MANEJO ALTERNATIVO DE DOENÇAS DE PALMA
FORRAGEIRA *Opuntia ficus-indica***

Areia - PB

2018

JOÃO ELIAS MOREIRA FILHO

MANEJO ALTERNATIVO DE DOENÇAS DE PALMA
FORRAGEIRA *Opuntia ficus-indica*

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade
Federal da Paraíba como requisito
parcial para a obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof. Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento

Areia - PB
2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

M838m MOREIRA-FILHO, João Elias.

MANEJO ALTERNATIVO DE DOENÇAS DE PALMA FORRAGEIRA
Opuntia ficus-indica / João Elias MOREIRA-FILHO. -
Areia, 2018.
56 f. : il.

Orientação: Luciana Cordeiro DO
NASCIMENTO. Monografia (Graduação) -
UFPB/CCA.

1. Controle alternativo. 2. Óleos essenciais. 3.
Fusarium oxysporum. 4. Scytalidium hyalinum. 5.
Identificação molecular. I. DO NASCIMENTO, Lucina
Cordeiro. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA


JOÃO ELIAS MOREIRA FILHO

**MANEJO ALTERNATIVO DE DOENÇAS DE PALMA
FORRAGEIRA *Opuntia ficus-indica***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal
da Paraíba como requisito parcial
para a obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 09 / 07 / 2018

BANCA EXAMINADORA



**Prof. Dra. Luciana Cordeiro do Nascimento – Orientadora
DFCA/CCA/UFPB**



Dr. Jean de Oliveira Souza – Examinador



Msc. Mirelly Miguel Porcino – Examinador

*Ao meus pais, **MARIA EIDIRAN LOPES** e **JOÃO ELIAS MOREIRA**, os verdadeiros merecedores de todo meu esforço. Vocês são os responsáveis por essa conquista. Vocês que me ensinaram a ter caráter, honestidade e a nunca desistir de conquistar meu sonho, pois bem, um deles está sendo realizado. Ao meu irmão **MODESTO VALCI MOREIRA LOPES**, por todas as vezes que estive ao meu lado, mesmo eu estando errado, você me orientou e me alertou. Sinto muito orgulho de você.*

Dedico.

Agradecimentos

Primeiramente, a Deus, por ter me dado discernimento até aqui, e ter aberto meus olhos para o meu verdadeiro sonho. Diante de tantas dificuldades encontradas, Ele foi o único que não fraquejou e desistiu de mim.

A toda minha família, que sempre esteve presente, me dando incentivos sempre que precisei. Em especial a minha mãe, Maria Eidiran Lopes; ao meu pai, João Elias Moreira; ao meu irmão Modesto Valci Moreira Lopes. Aos meus irmãos, que sempre que precisei de algo, mesmo à distância, não colocaram dificuldades em me ajudar. Ao meu primo-irmão, Riann Édipo Lopes Ferreira, pelas madrugadas de conselhos e desabafos. As minhas tias e primos. Sem o apoio de vocês isso não seria possível.

Gostaria de agradecer, também, a minha orientadora Luciana Cordeiro do Nascimento, por ter acreditado na minha capacidade quando a procurei em 2015 pelo estágio. Obrigado por ter me acolhido, obrigado toda paciência e assistência, você também é responsável por essa conquista.

Agradeço aos membros da banca, Dr. Jean de Oliveira Souza, que se deslocou da cidade de Mossoró – RN, para opinar e avaliar esse trabalho e a Msc. Mirelly Miguel Porcino, que dispôs do seu tempo para contribuir com seus conhecimentos.

Aos meus amigos: Thayse de Albuquerque Ferraz, Matheus de Araújo Lagares, Henrique Soares Reis Magalhaes e Gabriel Leite dos Santos Campos. Vocês foram um dos meus maiores apoios durante a graduação. Agradeço pelas madrugadas de estudo e de diversões. Agradeço a uma das amizades mais sinceras e valiosas que tive aqui: o (Sr.) Dr. Felipe Nolet, me espelho muito em você como profissional, muito obrigado por tudo.

Agradeço também aos que passaram pela minha vida durante essa jornada: os meus colegas de quarto Hívisson Fred e Antônio Davi; aos meus amigos que sempre me ajudaram quando os procurei: Ewerton Lima, Hiago Antônio, Indrid Duarte, Harrison Luiz, Carem Nobre, Gabriel Ginane, entre outros que possa ter esquecido. Agradeço aos colegas de trabalho: Edcarlos, Hilda, João Victor, José Manoel, Larissa, Otília, Rafael, Rommel, vocês sempre estiveram prontos para me ajudar no que precisei.

Agradeço a Dona Francisca e a Seu Tomaz por toda ajuda durante o meu tempo no Laboratório de Fitopatologia.

Um agradecimento especial para ao meu grande amigo Leonardo Dantas, e ao servidor-técnico Naú, eles foram essenciais para a montagem do experimento. Não posso esquecer de agradecer, também, aos meus amigos Enoque Medeiros e Joel Cordeiro, que me auxiliaram na reta final do trabalho.

A minha companheira: Thayná de Sena Siqueira, por sempre me apoiar em minhas decisões, por sempre ir comigo ao laboratório repetir experimentos, por sempre me fazer companhia, por ter me feito amadurecer ainda mais. Você apareceu em minha vida em um momento muito importante, o que te torna especial. Essa conquista também é por sua causa.

Agradeço aos professores do Departamento de Ciências Biológicas, vocês são exemplo de profissionais que carreguei durante toda minha graduação. Agradeço a coordenação, principalmente aos secretários Delza e Eduardo.

Gostaria de agradecer também ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), que parte desse trabalho foi fruto do projeto submetido e aprovado.

Por fim, agradeço a UFPB (Universidade Federal da Paraíba), pela oportunidade oferecida ao cursar um ensino superior.

João Elias Moreira Filho

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Valores médios de Temperatura, Umidade relativa do ar e Precipitação pluviométrica dos meses de outubro de 2016 até junho de 2017 no município de Areia – PB. Dados do INMET. 29
- Figura 2. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD)..... 35
- Figura 3. Dendrograma baseado no método de máxima parcimônia derivado das sequências da região ITS do rDNA. 40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Escala de notas para avaliação do índice de severidade da podridão escamosa em palma forrageira gigante. 27

Tabela 2. Valores médios de Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), Percentagem de Inibição de Crescimento (PIC), Taxa de Crescimento (TX) e ESPORULAÇÃO de *Fusarium oxysporum* in vitro tratados com óleos essenciais. .. 37

LISTA DE SIGLAS

PCR – Reação da Polimerase em Cadeia

ITS – Internal Transcribed Spacer

DFCA – Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais

CCA – Centro de Ciências Agrárias

DBC – Delineamento de Blocos Casualizados

ADE – Água Destilada Esterilizada

BDA – Batata-Dextrose-Ágar

AACPD – Área Abaixo da Curva de Proteção da Doença

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

IVCM – Índice de Velocidade de Crescimento Micelial

PIC – Percentagem de Inibição do crescimento

TX – Taxa de Crescimento

ANOVA – Análise de Variância

Resumo

A palma forrageira gigante (*Opuntia ficus-indica*) é uma das culturas mais cultivadas no semiárido brasileiro, sendo mais usada na alimentação animal. Um dos problemas recentes que acometem os cladódios de palma é a presença de alguns patógenos que afetam a produção e desenvolvimento dos palmais. Um dos métodos mais comuns de controle dos patógenos que acometem a *Opuntia* é o uso do fungicida orgânico calda bordalesa, todavia, o constante contato com a calda, pode causar danos à saúde por ser corrosiva em contato direto com a pele e mucosas, além de perda na produção por toxicidade. Dessa forma, este trabalho teve como objetivo identificar os patógenos fúngicos associados às podridões por meio de marcadores morfológicos e moleculares, bem como avaliar o uso de óleos essenciais como alternativas de manejo desses patógenos associados às doenças em palma forrageira gigante no estado da Paraíba. Foram testados os óleos de Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), Cravo (*Syzygium aromaticum*), Girassol (*Helianthus annuus*), Hortelã (*Mentha* sp.) e Semente de Uva (*Vitis vinífera*). Em uma concentração de 2,0%, além do fungicida (calda bordalesa), também a 2% e água destilada esterilizada (ADE) como testemunha. O experimento em campo foi conduzido durante 10 meses na área experimental Chã de Jardim, município de Areia, utilizando um delineamento de blocos casualizados, distribuídos em 4 blocos, 7 tratamentos com 4 unidades experimentais. Foi realizado controle *in vitro* do isolado *Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini*, um dos grupos de fitopatógenos mais importantes, e testado a ação dos tratamentos na concentração de 1%, durante 7 dias, com temperatura de 25°C. Os patógenos isolados das raquetes de palma, foram sequenciados para identificação molecular utilizando marcadores ITS, com o intuito de descobrir o epíteto específico dos patógenos. Analisando os resultados, com o sequenciamento foi possível identificar as espécies *Fusarium oxysporum*, *Alternaria tenuissima* e *Scytalidium hyalinum*, sendo associados a podridões nas raquetes da palma. No manejo em campo, o óleo de cravo proporcionou resultados mais eficientes que os demais tratamentos. Os óleos não diferiram estatisticamente da calda bordalesa. No controle *in vitro* o óleo de hortelã inibiu completamente o crescimento do patógeno e apresentou os melhores resultados em todas as análises realizadas.

Palavras-chave: controle alternativo, óleos essenciais, *Fusarium oxysporum*, *Scytalidium hyalinum*, identificação molecular.

Abstract

The giant forage palm (*Opuntia ficus-indica*) is one of the most cultivated crops in the Brazilian semi-arid, being more used in animal feed. One of the recent problems affecting palm cladodes is the presence of some pathogens that affect palm production and development of palms. Considered a common method of controlling the pathogens that affect *Opuntia* is the use of the organic fungicide Bordeaux syrup, however, the constant contact with the syrup can cause damage to health by being corrosive in direct contact with skin and mucous membranes, production loss due to toxicity. Thus, the main goal of this work was to identify fungal pathogens associated with rotting by means of morphological and molecular markers, as well as to evaluate the use of essential oils as alternatives for the management of these pathogens associated with diseases in giant forage palm in the state of Paraíba. The oils of *Rosmarinus officinalis*, *Syzygium aromaticum*, *Helianthus annuus*, *Mentha* sp. *Vitis vinifera*. Were tested with concentration of 2.0%, besides the fungicide (Bordeaux syrup), also with 2% and sterilized distilled water (ADE) as a control. The experiment in the field was conducted for 10 months in the experimental area of Chã de Jardim, Areia district, using a randomized block design, distributed in 4 blocks, 7 treatments with 4 experimental units. Usind “in vitro” control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini*, one of the most important phytopathogen groups, and tested the action of the treatments at 1% concentration for 7 days at a temperature of 25°C. The pathogens isolated from the palm rackets were sequenced for molecular identification using ITS markers, in order to discover the specific epitope of the pathogens. By analyzing the results, it was possible to identify the species *Fusarium oxysporum*, *Alternaria tenuissima* and *Scytalidium hyalinum*, being associated with rotting on the palm rackets. In field management, clove oil yielded more efficient results than the other treatments. The oils did not differ statistically from the Bordeaux mixture. However, in vitro control the peppermint oil completely inhibited the growth of the pathogen and presented the best results in all analyzes.

Key-words: alternative control, essential oils, *Fusarium oxysporum*, *Scytalidium hyalinum*, molecular identification.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivos gerais	15
2.2. Objetivos específicos:	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1. Aspectos gerais da palma forrageira	16
3.2. O uso da palma gigante.....	17
3.2.1. Importância socioeconômica da palma forrageira no Nordeste	18
3.3. Doenças em palma forrageira	19
3.4. Manejo sustentável de doenças da palma forrageira.....	21
3.5. O gênero <i>Fusarium</i>	24
3.6. Caracterização molecular de isolados fúngicos	25
4. MATERIAL E MÉTODOS	26
4.1. Local do experimento	26
4.2. Avaliação em campo de doenças de <i>Opuntia ficus indica</i>	26
4.3. Incidência de doenças em campo.....	27
4.4. Coleta de dados meteorológicos	28
4.5. Identificação Morfológica dos isolados do patógeno <i>in vitro</i>	29
4.6. Controle <i>in vitro</i> de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp., <i>cumini</i> com óleos essenciais	29
4.7. Identificação Molecular dos isolados do patógeno	31
4.8. Análise de resultados	32
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
6. CONCLUSÃO	42
7. REFERENCIAS	43
ANEXOS	54

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a palma é cultivada principalmente nas regiões áridas e semiáridas, devido a sua alta capacidade de suportar regiões secas e quentes. Dessa forma, o Nordeste do Brasil, possui a maior área cultivada do mundo, sendo estimada em 500 mil hectares, visando a subsistência da pecuária nos estados abrangidos pela região do Nordeste. Essa região apresenta algumas dificuldades em relação à sustentabilidade dos sistemas de produção de alimentos, principalmente pelo histórico de secas cíclicas, responsáveis por impactos severos na agropecuária, incluindo a perda de animais e lavouras, levando ao agravamento de problemas sociais, ambientais e econômicos (LINDOSO et al., 2013; BATISTA et al., 2018).

A cultura de palma é utilizada como forragem, pois é possível suprir a necessidade de água, além de ser rica em carboidrato não fibroso, tornando-a assim, uma principal fonte de energia para os ruminantes (SANTOS et al., 2012). Sendo assim, a FAO (Food and Agriculture Organization) reconhece o potencial da palma e sua importância econômica no desenvolvimento das regiões semiáridas, através da exploração de muitas espécies, com consequências muito positivas para o meio ambiente e para segurança alimentar (CHIACCHIO et al., 2006).

Algumas doenças acometem a produção de palma, tendo como principais agentes causais os fungos, originando podridões e totais perdas na produção (LOPES, 2012), destacando-se: podridão preta (*Lasiodyplodia theobromae*), gomose (*Dothiorella ribis*), podridão de fusário (*Fusarium solani*), murcha de fusário (*Fusarium oxysporum* f. sp. *opuntiarum*), podridão do colo (*Phytophthora cactorum*), podridão de rizoctonia (*Rhizoctonia solani*), antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) e mancha de *Alternaria* (*Alternaria tenuis*) (SOUZA, 2010). No entanto, a etiologia de muitas dessas doenças ainda não foi totalmente definida, já que muitos desses patógenos, classificadas por seus determinadores são, na verdade, grandes grupos morfológicos com elevada diversidade de espécies filogenéticas (WEIR et al., 2012; COLEMAN, 2016).

Com relação ao manejo de doenças, um controle natural surge com alternativa ao uso de produtos químicos, sendo importante para o uso de uma agricultura sustentável, além de que, não proporciona resistência aos patógenos controlados. Dessa forma, a utilização de métodos naturais constitui-se como uma das tecnologias apropriadas para o atual conceito de agricultura agroecológica com uso mínimo de defensivos.

Atualmente são utilizados métodos alternativos de controle fitossanitário, na substituição de agroquímicos, para o controle de doenças e pragas na agricultura, visando gerar o mínimo de impacto sobre o ecossistema (PAULA JUNIOR et al., 2016; MACHADO, 2018). Sendo assim, o uso de óleos essenciais vem sendo alvo de muitos estudos ao longo dos anos. Muitas plantas produzem esses metabólicos que apresentam baixa toxicidade a mamíferos, além de possuírem um papel fundamental na defesa contra predadores e fitopatógenos (COSTA et al., 2011; PEIXINHO et al., 2017).

Marcadores moleculares permitem gerar uma grande quantidade de informações sobre diversidade genética e das relações filogenéticas dos indivíduos analisados, por essa razão, estão sendo muito utilizadas para identificação de espécies de microrganismos buscando identificar diferentes espécies que possuem similaridades morfológicas (KIMURA, 2017).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos gerais

- Manejo e identificação de patógenos em palma forrageira por meio de marcadores moleculares.

2.2. Objetivos específicos:

- Identificar os patógenos fúngicos associados às podridões de palma forrageira gigante no município de Areia - PB por meio de marcadores morfológicos, fenotípicos e moleculares;
- Avaliar o uso de óleos essenciais in vitro e in vivo como forma de manejo alternativo dos patógenos associados às podridões de palma forrageira gigante no município de Areia - PB.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Aspectos gerais da palma forrageira

A espécie *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill, popularmente conhecida como palma forrageira, é um vegetal exótico de origem mexicana. Depois de identificada, a *O. ficus indica* foi introduzida na Espanha, devido as propriedades contra o escorbuto e sequencialmente no Mediterrâneo. Atualmente, é encontrada nos demais continentes (ADLI et al., 2017). De acordo com Silva (2007a) no Nordeste do Brasil são encontrados três tipos distintos de palma: gigante *Opuntia ficus indica*; redonda – (*Opuntia* sp) e miúda – *Nopalea cochenilifera*.

Um dos principais interesses associado aos cactos é a capacidade de armazenar água em cladódios suculentos espinhosos, além de realizarem fotossíntese pelo metabolismo da via CAM (NOBEL, 2001). Dessa forma, os fatores ambientais, como a temperatura e precipitação, permitiram a diversidade da família com maiores registros no México, seguido pelo Brasil, Bolívia e Peru (MOURELLE et al., 1997; ORTEGA et al., 2010).

As opuntias fazem parte do ambiente natural e dos sistemas agrícolas e foram nomeadas de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. Esta espécie de cacto é considerada a mais importante do mundo (KIESLING, 1999). É cultivada na América, África, Ásia, Europa e Oceania (CASAS et al., 2002). Pode ser encontrada em diversos ambientes em todo o globo, indo desde o Canadá até a Patagônia, Argentina, podendo ser encontrada também em lugares ao nível do mar ou com até 5 100 m de altitude, como exemplo do Peru (BRAVO HOLLIS et al., 1995; FAO, 2017).

O gênero *Opuntia* espalhou-se rapidamente em várias regiões, visto que, o vegetal pode adaptar-se a diversos ambientes, o que se deve à sua alta variação genética, que se origina da grande diversidade ecológica das áreas de onde são nativas. Devido a essa adaptação, a palma forrageira torna-se, às vezes, uma ameaça à biodiversidade nativa (FAO, 2017). Outro motivo que pode ser somado ao alto grau de diversidade da espécie é a reprodução sexual e propagação vegetativa (ADLI et al., 2017).

A *O. ficus-indica* é habitualmente encontrada em regiões semiáridas, onde as características morfofisiológicas permitem uma adaptação a climas áridos e semiáridos (SILVA et al., 2012a). O Brasil possui uma área de produção de 500.000 hectares de palma forrageira, na qual se adaptou rapidamente as condições climáticas impostas pelo

Nordeste brasileiro, com maior destaque para os estados da Paraíba, Pernambuco, Sergipe e Alagoas, onde é considerada um vegetal de grande importância para a região, sendo utilizada como alimento na pecuária, combatendo fome e desnutrição dos animais durante longas estiagens (FREIRE et al., 2015). No último Censo Agropecuário realizado pelo IBGE (1995), mostrou que o estado da Paraíba possuía cerca de 23.708 hectares de área colhida de lavouras temporárias e grupos de área total.

3.2. O uso da palma gigante

O número de pequenos produtores de palma é grande, onde a maior parte da produção é destinada a forragem. Vale destacar que o Brasil é o pioneiro de produção e tecnologia intensiva de forragem, assim, a *O. ficus-indica* atinge o mais alto nível de produção em massa seca no mundo (FAO, 2017).

Os principais usos atuais da palma forrageira são destinados a alimentação humana, todavia, seu uso, porém, esbarra no preconceito, visto que, tradicionalmente, as palmas são usadas como ração animal. Vale salientar que, a palma tem valor nutritivo maior que alguns alimentos, como a couve (*Brassica oleracea*), a beterraba (*Beta vulgaris*) e a banana (*Musa sp.*), com a vantagem de ser um produto mais econômico (SILVA et al., 2015).

Na alimentação animal, o farelo da palma possui fonte alternativa de energia na alimentação dos ruminantes (LOPES, 2012). Dessa forma, as palmas podem ser alternativas eficazes de combate à fome e a desnutrição no semiárido nordestino por serem ricas em vitaminas A e do complexo B e C, em minerais, tais como, cálcio, magnésio, sódio e potássio, e em 17 tipos de aminoácidos. Outros usos da palma são destinados ao uso da medicina natural, na produção de cosméticos (xampu, sabonetes, loções), no uso agrônômico (cercas-vivas, proteção do solo) e por fim, na produção de energia (SILVA et al., 2015).

A produção sustentável de biocombustíveis lignocelulósicos requer um fornecimento suficiente de biomassa como matéria prima. Nesse caso, entram as palmas, que com sua elevada produção de biomassa e alta eficiência no uso da água, apresentam-se altamente viáveis como culturas bioenergéticas em regiões semiáridas (SILVA et al., 2015) e nesse sentido, um manejo de doenças menos oneroso e mais eficiente proporcionariam cultivos mais sustentáveis.

3.2.1. Importância socioeconômica da palma forrageira no Nordeste

Um relatório realizado pelo Banco do Nordeste do Brasil (BNB, 1959) revelou que a palma foi introduzida no Nordeste brasileiro em 1886 por Herman Lundgren, que se instalou no estado de Pernambuco e importou da Califórnia cladódios-semente de palma desprovida de espinhos, uma variedade híbrida. A mesma variedade estava sendo utilizada nas zonas semiáridas da Califórnia, para a alimentação dos rebanhos bovinos e mostrou que essa variedade, denominada cactus de Burbank, foi desenvolvida pelo botânico americano Luther Burbank e se adaptou favoravelmente ao clima nos sertões do Nordeste brasileiro (LIRA et al., 2017).

Foi incumbido ao Departamento Nacional de Obras Contra as Secas (DNOCS), a realização de tentativas de difusão da utilização da palma para fins de alimentação animal, principalmente nos estados incluídos no Polígono das Secas (BNB, 1959). No início, não foi obtido o sucesso esperado, pois poucos produtores rurais não demonstraram interesse pela cultura. Entretanto, em 1946, a Secretaria de Agricultura do estado de Alagoas passou a incentivar o cultivo da palma, por meio da distribuição de mudas e prêmios aos que se mostravam interessados pela palma forrageira. Por esse incentivo, vários municípios do estado se transformaram em zonas de produção animal, com enfoque maior na produção de bovinos leiteiros e de corte. Sendo assim, o sertão de Alagoas se tornou uma das bacias leiteiras mais importantes do Nordeste, assim como o agreste de Pernambuco, somam duas regiões onde a palma é a principal fonte de alimentos da dieta animal (LIRA et al., 2006; NEVES et al., 2009; ALMEIDA, 2012).

Na Paraíba, a cultura da palma forrageira cobre uma área de 150 mil hectares em todo o estado, sendo que, a maioria é cultivada nas áreas semiáridas. Essa cultura é necessária para o desenvolvimento econômico e social da agropecuária da região, principalmente durante o período de estiagem, já que as espécies nativas não suportavam o estresse hídrico. (FIGUEIREDO, 2010; BEZERRA et al., 2014).

O aumento do plantio e do emprego da cultura de palma forrageira no dia-a-dia só ocorreu por causa da adaptação a ambientes áridos, a tolerância aos períodos de estiagem e as temperaturas elevadas. Entretanto, isso só foi possível devido ao mecanismo fotossintético, CAM – mecanismo de ácido das crassuláceas – na qual possuem mais eficiência no uso da água em relação as demais (C3 e C4) (SNYMAN, 2006; 2013).

O zoneamento de aptidão climática é um instrumento de extrema importância e vastamente utilizada no planejamento da produção e rendimento agrícola. Dessa forma, sabendo da importância do conhecimento do zoneamento agroclimático para a agricultura, diferentes regiões brasileiras têm realizado esse estudo para diferentes plantações, como também da palma forrageira (NUNES et al., 2007; MEDEIROS et al., 2009; POSSAS et al., 2012; ASSAD et al., 2013; BEZERRA et al., 2014).

Segundo Bezerra et al., (2014), foi constatado que a mesorregião da Borborema é a região mais favorável para o cultivo da cultura, já que, a região propicia as melhores condições climáticas. As únicas restrições para o cultivo da palma forrageira na mesorregião da Borborema estão relacionadas com a precipitação, cujas médias não ultrapassam os 368 milímetros, o limite inferior da aptidão plena. Outra limitação ocorre no noroeste da mesorregião, e está relacionada às temperaturas, cujos valores médios são superiores ao limite superior da aptidão plena.

Dessa forma, as restrições necessárias para o cultivo da *O. ficus-indica* quanto as temperaturas, se deve ao fato de que essa variável ambiental influencia no mecanismo de absorção de CO₂, como citado por Nobel et al., (1984). Elevadas temperaturas inibem a abertura dos estômatos e, conseqüentemente, as atividades fotossintéticas (NOBEL, 1994). Sabendo disso, a melhor região para a produtividade da cultura é a região do Agreste Pernambucano, devido as temperaturas amenas (MOURA et al., 2011).

No estado da Paraíba, a produtividade da palma forrageira na região da Borborema chegou a ser aproximadamente 68% superior aos valores observados no Sertão (LIMA, 2011; SOUSA et al., 2012a).

3.3. Doenças em palma forrageira

Apesar das formas de adaptação, os problemas fitossanitários da palma forrageira podem ser considerados como um dos fatores limitantes para a exploração da cultura. Essas doenças atacam diversas cultivares, causando perdas e prejuízos devido aos ataques de fungos e bactérias (LIRA et al., 2017).

Os fungos representam, o maior grupo de patógenos dos vegetais, sendo assim, também são os mais disseminados na cultura de palma forrageira (GRANATA, 2001). Os fungos possuem uma fase vegetativa que é composta de micélio (hifas), que garante o crescimento, os quais têm uma relação parasitária com a planta hospedeira

(ZIMMERMANN et al., 2002). Seus esporos podem ser disseminados pela água, pelo vento ou por insetos, e a entrada nos tecidos vegetais é auxiliada por danos causados por insetos (MITCHELL, 2004).

Diversos fungos podem ser encontrados em cladódios e frutos de palma forrageira. Entretanto, muitos são patógenos secundários, aproveitando-se de plantas enfraquecidas. Ammar et al., (2004) encontrou *Aspergillus niger*, *Fusarium solani* e *Alternaria sp.* associados a cladódios. Já no trabalho realizado por Granata et al., (2002), afirmaram que:

“As principais doenças de *Opuntia ficus-indica* são: *Alternaria alternata* (Itália, África do Sul e México), *Colletotrichum sp.* (México), *Armillaria mellea* (Argentina e Itália), *Macrophomina sp.* (México), *Aecidium sp.* (Bolívia e Peru), *Gleosporium herbarum* (Argentina, Itália e México), *Sclerotinia sclerotiorum* (Argentina e Chile), *Phytophthora cactorum* e *P. nicotianae* (Itália e Estados Unidos), *Fusarium oxysporum* (Itália), *Botrytis cinérea* (Argentina, Chile, Itália, México, África do Sul e Estados Unidos), *Dothiorella gummosis* (Itália), *Cytospora sp.* (Itália e México), *Phoma sorghina* (Argentina) e *Cercospora sp.* (Bolívia e Peru).”

Pouco se conhece sobre a etiologia de patógenos associados a doenças em palmas forrageiras no Brasil. O trabalho mais recente restringe-se a descrição morfológica de espécies (SOUZA et al., 2010; LOPES, 2012) que são conhecidas por possuírem elevada variabilidade genética, tais como *Colletotrichum spp.*, *Botryosphaeria spp.*, *Rhizoctonia spp.* e *Fusarium spp.* (WEIR et al., 2012; COLEMAN, 2016).

No Brasil, encontra-se relatos de sintomas causados por *Colletotrichum gloeosporioides*, caracterizado por manchas marrons escuras (OSADA et al., 1991; KIM et al., 2000; SOUZA et al., 2010; FAO, 2017).

O plantio adensado da palma pode contribuir com o aumento da incidência dessas doenças, no entanto, é sabido que não há medidas efetivas de controle, então deve-se procurar medidas de manejo que visa controlar a ocorrência dos patógenos.

O manejo de doenças é importante para sustentabilidade dos plantios de palma forrageira, uma vez que reduz perdas causadas pelo aumento da incidência dos patógenos associados às doenças. As doenças da palma têm sido pouco estudadas no Brasil e quase todos os trabalhos descrevem a ocorrência, patogenicidade dos patógenos e incidência das podridões (SOUZA et al., 2010; LOPES, 2012). As referidas doenças possuem características sintomatológicas distintas e ocorrem em baixa incidência e, portanto, não causam danos severos à cultura em condições de baixa pluviosidade e cultivos não adensados. É provável que a baixa severidade das doenças na palma esteja

relacionada com o sistema tradicional de cultivo desta cactácea. No entanto, a expansão da cultura e o plantio adensado podem contribuir para uma maior incidência das doenças, justificando os estudos mais detalhados.

3.4. Manejo sustentável de doenças da palma forrageira

A escolha do sistema de plantio ideal para a palma forrageira é influenciada por aspectos socioeconômicos, tais como o tamanho da propriedade, o acesso ao crédito, disponibilidade de mão de obra, custo da aquisição de insumos químicos agrícolas que podem encarecer o preço do produto final. Assim, uma das formas de reduzir o preço do produto final e usar produtos alternativos ao uso de agrotóxicos nos plantios para controle de doenças. Avanços na agricultura agroecológica visam estratégias promissoras ao manejo de doenças, tais como, a proteção de plantas por meio da utilização de microrganismos e compostos de organismos que impedem o desenvolvimento dos patógenos nas plantas (RESENDE et al., 2007). Com esses avanços, pode-se aumentar a produção agrícola e contribuir para atender à crescente demanda por qualidade e redução de custos.

O uso de óleos essenciais extraídos de plantas mostra-se bastante promissor na proteção natural de doenças. O uso desses compostos secundários tem mostrado eficiência em efeitos inibitórios ou tóxicos sobre diversos patógenos, como também, na indução na proteção contra doenças (PUPO et al., 2003; FIALHO et al., 2015).

Assim, o uso de produtos alternativos e biológicos como agentes de controle de doenças em plantas são de extrema importância, pois substituem os agrotóxicos tão prejudiciais ao meio ambiente, homem e animais e oneram a produção agrícola. Dentre estes produtos, destacam-se produtos bióticos ou abióticos que apresentam elevada eficiência no controle de doenças em várias culturas agrícolas, por serem praticamente atóxicos e não deixarem resíduos danosos à saúde humana e ao meio ambiente (RESENDE et al., 2007).

Deve ser ressaltado que, em relação às doenças atualmente descritas, não existem indicações de medidas efetivas de manejo dos patógenos, exceto o plantio na época seca e o uso de raquetes-semente sadias, além do uso de calda bordalesa como defensivo químico (SANTOS et al., 2006).

O Brasil é um dos maiores consumidores de defensivos agrícolas do mundo. Entretanto, o uso de agrotóxicos para realizar o controle de doenças em plantas é uma

estratégia convencional (SARMENTO-BRUM et al., 2013). Como consequência, o uso contínuo e indiscriminado de produtos químicos causa graves desequilíbrios ambientais, resultando na contaminação de alimentos, animais e reservas hídricas, ocasionando a redução na qualidade e na expectativa de vida da população e além de que, favorece o surgimento de resistência aos patógenos, favorecendo o surgimento de pragas secundárias (DINIZ et al., 2008; FONSECA et al., 2015).

É importante a busca por novas estratégias alternativas de controle de doenças, com enfoque maior no manejo sustentável. Por esse motivo, pesquisas visam o controle de doenças utilizando óleos essenciais, e extratos vegetais (SCHWAN-ESTRADA et al., 2005; FONSECA et al., 2015). Esses óleos são obtidos como produto do metabolismo secundário de vegetais, que possuem substâncias voláteis, lipofílicas, geralmente odoríferas e líquidas, apresentam baixo peso molecular e podem ser atraentes ou repelentes. Tais substâncias podem ser encontradas em todos os tecidos vegetais (KNAAK et al., 2010; MILLEZI et al., 2014).

O uso desses metabólitos estão presentes, principalmente, no controle natural, sendo utilizado como, antibacterianos, antivirais, antifúngicos, inseticidas e contra o ataque de herbívoros. Outra utilização dos óleos essenciais está relacionada ao uso em setores de higiene pessoal, perfumaria, cosmética, com um mercado mundial girando em torno de US\$ 1,8 bilhão (MILLEZI et al., 2014).

Pesquisas realizadas com óleos essenciais, mostram que esses compostos tem a capacidade de ativar ou inibir a defesa dos vegetais, o que comprova o potencial dessas moléculas no controle de fitopatógenos, tanto a germinação de esporos, sendo assim, podemos afirmar que essas moléculas possuem uma ação fungitóxica (SMITH, 1996; STANGARLIN et al., 1999).

Outra forma de controle é pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos com características elicitoras, como afirmou Knaak et al., (2010):

Assim sendo, o modo que as fitoalexinas agem sobre os fungos inclui uma granulação citoplasmática, uma desorganização dos conteúdos celulares, uma ruptura da membrana plasmática e a inibição de enzimas fúngicas. Esses efeitos refletem-se na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo e na redução ou inibição do crescimento micelial dos fungos.

A exploração no controle natural utilizando os óleos essenciais no controle de doenças, tem aumentado, principalmente, daquelas que provocam danos econômicos à agricultura, uma vez que, em relação a doenças atualmente descritas que ocorrem em

Opuntia ficus-indica não existe indicações de medidas efetivas de controle com o uso de fungicidas químicos (LIRA, 2017).

Os trabalhos que vêm sendo realizados com óleos essenciais, apresentam excelentes resultados. Por exemplo, Salgado et al., (2003) testaram óleos extraídos de diferentes espécies de eucalipto (*Eucalyptus* sp.) e observaram que houve inibição do crescimento micelial do fungo a medida que aumentava a concentração do óleo (SOUSA et al., 2012b).

Outros tipos de óleos têm demonstrado capacidade de controlar fitopatógenos (PASSOS, 2012; SILVA, 2012b; VELOSO, 2012) e bacterianas em plantas (MONTIES, 1989; JUNIOR, 2004; SILVA, 2017). Ishida et al., (2008) testando óleos essenciais de diferentes espécies de Copaíba (*Copaifera langsdorffii*), verificaram o potencial de inibição do crescimento micelial em *Fusarium solani* f. sp. *piperis*, agente causal da podridão das raízes em plantas de pimenta-do-reino (*Piper nigrum*).

O mecanismo de ação dessas substâncias envolve, principalmente, os efeitos tóxicos à estrutura e à função da membrana celular. Como as membranas possuem uma afinidade com lipídios, o óleo irá se deslocar da fase aquosa em direção às estruturas de membrana (SIKKEMA, 1995), e o acúmulo dos constituintes do óleo essencial na bicamada lipídica da membrana irão conferir uma característica de permeabilidade. Sendo assim, quanto maior a concentração dessa substância utilizada na solução, maior será a capacidade do mesmo de se deslocar em direção à membrana citoplasmática, afetando assim seu funcionamento (SILVA, 2017).

Não obstante, já existem alguns óleos que são capazes de controlar diversos patógenos, como os óleos de pau rosa (*Aniba rosaeodora*), hortelã (*Mentha* sp.) e copaíba (*Copaifera langsdorffii*), apesar de apresentar grande inibição do crescimento fúngico, inibindo em alguns frutos 100% o crescimento de *C. gloeosporioides* (SOUSA et al., 2012b).

Ainda há poucos trabalhos que utilizam diferentes óleos essenciais para o manejo de doenças *in vivo*. Normalmente, a concentração é estabelecida de acordo com a literatura, porém, nesta são encontradas concentrações diversas e os testes *in vitro* nem sempre são representativos, pois os patógenos se comportam de forma diferente quando estão interagindo com as plantas e expostos às variáveis ambientais. Dessa forma, fica clara a necessidade de se determinar a concentração ideal para a utilização dos óleos essenciais, pois eles podem ser mais eficientes e mais viáveis economicamente (SILVA, 2017).

3.5. O gênero *Fusarium*

Um dos patógenos encontrados no Brasil, utilizando cladódios de palma como hospedeiro é o gênero *Fusarium* sp., sendo relatado por Swart et al., (2002); Ammar et al., (2004); Swart, (2009); Souza et al., (2010) ao encontrar *F. oxysporum*, f. sp. *proliferatum* e *F. sporotrichoides*, estavam associados a lesões secas necróticas nos cladódios. Outras espécies de *Fusarium* também foram descritas como agentes causadores de podridão superior e manchas circulares nos cladódios, causadas por *F. solani* e *F. lunatum*, respectivamente (FAO, 2017).

Esse gênero possui uma ampla distribuição geográfica, onde é possível encontrar mais de 70 espécies cosmopolitas, contudo, outras ocorrem em regiões limitadas por barreiras naturais ou ambientais, principalmente, nas regiões tropicais e subtropicais. São encontrados no solo, sobrevivendo como saprófitas, mas também podem crescer em resíduos de plantas e substratos orgânicos. Algumas espécies são facultativas parasitas, que, sob condições favoráveis, podem causar doenças em vegetais (MONTEIRO, 2004; LESLIE et al., 2006; KOTOWICZ et al., 2014)

Os esporos desse grupo são bem característicos, possuem macroconídios hialinos, geralmente septados. Entretanto, esses macroconídios geralmente podem apresentar formas distintas, tais como: delgado, agulha, curvatura dorsal e ventral; podem ser grossos, em forma de gancho, afilados. Já os microconídios, também apresentam diferentes formas, apresentando características morfológicas como: ovais, reniformes ou alantoides. (HAWKSWORTH et al., 1995; MONTEIRO, 2004).

O gênero *Fusarium* é um dos patógenos mais comuns que atacam diversos tipos de plantações, principalmente cereais, como também outras plantas que são utilizadas na nutrição humana e animal, causando perdas econômicas significativas. Eles podem infectar plantas em qualquer estágio de crescimento, causando ferrugem de plântulas, podridão radicular, podridão-base, fusariose (ŁUKANOWSKI et al., 2002; KOTOWICZ et al., 2014; BALMAS et al., 2015; KUZDRALIŃSKI et al., 2017).

Outros fatores que influenciam a ocorrência de doenças são as condições climáticas, estas afetam tanto o crescimento da planta, como a presença de infecção (KOTOWICZ et al., 2014). Espécies desse gênero estão presentes no solo com alta intensidade em anos quentes e úmidos, com grande precipitação, já que se espalham através de macroconídeos.

O micélio desse gênero invade o tecido vascular, bloqueando o xilema, evitando o movimento da água pela região atingida, dessa forma, pela quantidade de vasos bloqueados pelos conídios, ocorre a murcha, popularmente conhecida por murcha-de-fusarium. Esse sintoma pode ocorrer de outra forma, onde as toxinas produzidas pelo patógeno afetam a permeabilidade da membrana celular, interrompendo o metabolismo celular (MONTEIRO, 2004).

Diversos fitopatógenos possuem '*formae specialis*', termo dado por Snyder & Hansen (1953), para agrupar isolados patogênicos que possuem semelhança morfológica, mas que diferenciam em suas habilidades em parasitar seus hospedeiros específicos (OLIVEIRA, 2002). O gênero *Fusarium* também possui diversas subespécies, que infectam várias cultivares, assim como *F. oxysporum*, que possui mais de 150 formas específicas descritas (BAAYEN et al., 2000). Entretanto, estudos filogenéticos mostraram que a maioria das subespécies é representada por grupos não-monofiléticos (BAAYEN et al., 2000; O'DONNELL et al., 2009; FOURIE et al., 2010; SILVA, 2016).

3.6. Caracterização molecular de isolados fúngicos

É necessário o conhecimento sobre as características morfológicas das colônias, a forma de crescimento dos micélios e as características dos conídios. A identificação por meio de chaves taxonômicas era aceita; contudo, os trabalhos mais recentes tendem a ignorar essa identificação morfológicas e optam por uma identificação molecular desses organismos (LAZAROTTO, 2013).

É preferível utilizar a identificação de espécies de fungos fitopatogênicos utilizando técnicas moleculares baseadas nas análises de isoenzimas, que têm sido aplicadas na área da Micologia, possibilitando o desenvolvimento de métodos rápidos e confiáveis na identificação das espécies (TEIXEIRA, 2004; LAZAROTTO, 2013). A interação entre a classificação e filogenia é de suma importância, pois permite desmitificar similaridades entre as características morfológicas.

A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) é uma das técnicas mais utilizadas para a identificação de fungos, ela amplifica fragmentos específicos do DNA. A região mais utilizada para identificação molecular de fungos, é conhecida por "Internal Transcribed Spacer (ITS)", essa região faz parte da estrutura do gene do RNA ribossômico. A escolha desta região para a identificação se dá pelo motivo de ser a menos suscetível à

pressão do ambiente, e dessa forma, acumula maior porcentagem de mutação do que outras áreas do gene (TYRREL et al., 1997; LAZAROTTO, 2013).

Não obstante, o gênero *Fusarium* possui características morfológicas de colônia e pigmentação bem definidos. Todavia, devido as diversas variações que ocorrem dentro da espécie, os marcadores moleculares, que utilizam das relações filogenéticas, oferecem uma classificação e identificação do grupo, auxiliando na designação mais precisa do gênero (ONO et al., 2010).

As técnicas biomoleculares são importantes ferramentas auxiliares na taxonomia e caracterização de isolados, e dão suporte na identificação das espécies. Antes a identificação das espécies era mais subjetiva, por meio de aspectos morfológicos, entretanto, atualmente é abrangido critérios biológicos e filogenéticos baseados em informações moleculares, de diferentes regiões genômicas. Essas técnicas, têm ainda permitido a análise da variabilidade do DNA, pois identifica pontos de referência nos cromossomos (SUMMERELL et al., 2003; MONTEIRO, 2004; WALKER, 2016).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local do experimento

O experimento foi conduzido na Fazenda Chã de Jardim, Setor de Horticultura do Departamento de Fitotecnia e Ciências Ambientais (DFCA) do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Areia – PB e, posteriormente, no Laboratório de Fitopatologia da mesma instituição.

4.2. Avaliação em campo de doenças de *Opuntia ficus indica*

Foi utilizada a cultivar *PalmepaPBI* de *Opuntia ficus-indica*, melhorada para evitar predação pela cochonilha do carmim (*Dactylopius coccus*), foi colhida na estação da EMEPA/PB no município de Alagoinha – PB e plantadas pelo método convencional (posição inclinada).

O experimento foi conduzido em delineamento em blocos casualizados (DBC), com 4 blocos e 7 parcelas. Cada parcela foi constituída por 4 raquetes de palma, distribuídas em 2 fileiras, com um espaçamento de 0,5 metros entre elas. A distância entre as parcelas era de 1 metro (anexo).

Os tratamentos foram constituídos por cinco óleos essenciais: Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), Cravo (*Syzygium aromaticum*), Girassol (*Helianthus annuus*), Hortelã (*Mentha* sp.) e Semente de Uva (*Vitis vinífera*) diluídos a 2% (2 mL de óleo para 100 mL de ADE), além da calda bordalesa (fungicida) e a testemunha (água destilada esterilizada – ADE). Para o preparo da calda bordalesa, em um recipiente de plástico, 100 gramas de sulfato de cobre, envoltos em pano de algodão, foram diluídos em 1 litro de água morna durante 4 horas. Em paralelo, em outro recipiente, 100 gramas de cal foram diluídas em 9 litros de água. Posteriormente, misturaram-se os dois componentes (PAULUS et al., 2001).

A área sofria limpeza semanal, evitando que plantas daninhas competissem com raquetes de palma que foram plantadas.

4.3. Incidência de doenças em campo

O experimento foi avaliado durante um período de 240 dias, entre os meses de outubro de 2016 até junho de 2017, onde foram realizadas 2 aplicações dos tratamentos durante a condução do mesmo. As aplicações foram realizadas ao final da tarde com ajuda de borrifadores manuais, e o ponto de escorrimento foi o método utilizado para garantir a total abrangência do produto ao cladódio. Cerca de 35mL eram utilizadas para tratar cada unidade experimental (cladódio) em campo.

As avaliações de incidência e severidade da doença foram estimadas quinzenalmente em todos os cladódios através da porcentagem de área foliar (entende-se folha como cladódio) lesionada pela doença com um auxílio de notas adaptada de Souza (2010).

Tabela 1. Escala de notas para avaliação do índice de severidade da podridão escamosa em palma forrageira gigante. Adaptada de Souza (2010).

Nota	Descrição
Nota 0	Cladódio sem sintomas de doença
Nota 1	até 10% da área do cladódio acometida
Nota 2	de 10% a 25% da área do cladódio acometida
Nota 3	de 25% a 50% da área do cladódio acometida
Nota 4	de 50% a 75% da área do cladódio acometida
Nota 5	mais de 75% da área do cladódio acometida

Foram realizadas 13 avaliações de severidade. A partir dos dados obtidos, foram traçadas as curvas de progresso da doença para cada tratamento, e calculadas as áreas delimitadas por estas curvas de interação trapezoidal, utilizando a equação:

$$AACPD = \Sigma [(y1 + y2) / 2 * (t2 - t1)]$$

Onde:

Y1 = nota da severidade na avaliação anterior,
Y2 = nota da severidade na avaliação posterior.
Os valores de t1 e t2 é o intervalo de avaliação.

4.4. Coleta de dados meteorológicos

Sabe-se que o desenvolvimento dos fungos é favorecido pelo microclima em que estão inseridos, visto que, temperatura e a umidade são os principais fatores abióticos que influenciam o crescimento e desenvolvimento desses microrganismos (COOPER et al., 1996; NOBRE et al., 2010; LASRAM et al., 2010; PASSAMANI et al., 2014; OLIVEIRA, 2016).

Dessa forma, os dados meteorológicos do município de Areia para os dados de umidade, temperatura e precipitação foram colhidos na subestação do INMET de Areia – PB (Figura 1).

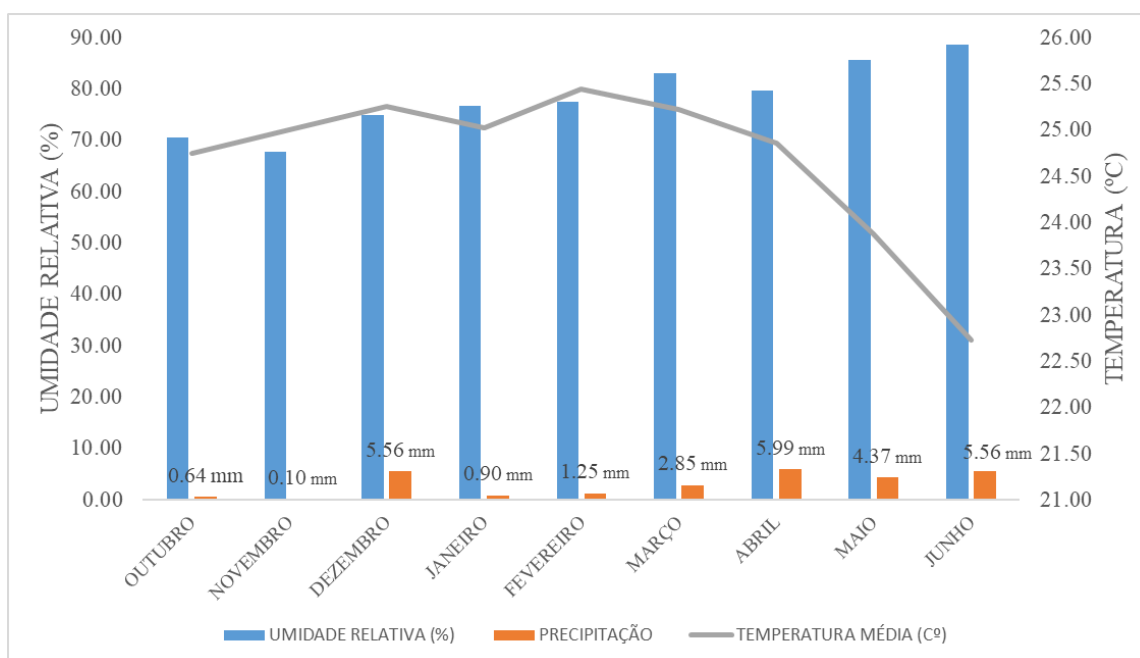


Figura 1. Valores médios de Temperatura, Umidade relativa do ar e Precipitação pluviométrica dos meses de outubro de 2016 até junho de 2017 no município de Areia – PB. Dados do INMET.

4.5. Identificação Morfológica dos isolados do patógeno *in vitro*

Os patógenos foram isolados pelo método direto, que consiste na transferência do órgão infectado ou de qualquer outro substrato para placas contendo meio de cultura (BDA). Após 7 dias em incubação em micoteca, com temperatura média de 25°C, os isolados foram purificados e identificados com as características de cor, além da análise das estruturas dos conídios e colônias observadas em um microscópio óptico, foi possível identificar os isolados a nível de gênero.

O patógeno foi incubado para ser analisado o crescimento micelial e produção de esporos. A avaliação de crescimento micelial ocorreu até a repetição da testemunha ocupar toda a placa. A produção de esporos só foi realizada após 12 dias de incubação, para estimular a produção de esporos do isolado.

4.6. Controle *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp., *cumini* com óleos essenciais

Para as análises *in vitro* foi utilizado o isolado *Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini*, visto que, a sua importância como principal patógeno de muitas culturas, como também, devido a incidência de patogenicidade em *O. ficus-indica* no município de Areia. O isolado foi anteriormente cultivado em meio de Batata-Dextrose-Ágar (BDA) e mantido

na coleção de fungos pertencente ao Laboratório de Fitopatologia da UFPB/CCA, por 10 dias a uma temperatura de 25°C. Depois desse período, discos de colônia fúngica foram retirados e cultivados no centro de placas de Petri com diâmetro de 9cm, contendo 10mL de meio de cultura BDA na placa contendo uma concentração de 1% para os óleos de Alecrim (*Rosmarinus officinalis*), Cravo (*Syzygium aromaticum*), Girassol (*Helianthus annuus*), Hortelã (*Mentha* sp.) e Semente de Uva (*Vitis vinífera*). Para a testemunha, foram utilizadas placas de Petri contendo apenas BDA, e placas contendo 1% de seu volume com calda bordalesa. Os testes foram distribuídos em 4 repetições, contendo 2 placas cada (4 x 2), e mantidos por 12 dias na micoteca com uma temperatura de 25°C.

A avaliação do experimento iniciou após 24 horas de incubação através de medições do diâmetro das colônias (média das duas medidas diretamente opostas) utilizando régua milimétrica até a colônia controle atingir os limites da placa, o que ocorreu após 7 dias de incubação.

Foi calculado o Índice de Velocidade de Crescimento Micelial, de acordo com a fórmula descrita por Oliveira (1991).

$$IVCM = \sum (D - Da) / N$$

Sendo que:

D = diâmetro médio atual da colônia,

Da = diâmetro médio da colônia do dia anterior

N = número de dias após a incubação

Com base nesses resultados, foi possível determinar a percentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) e a taxa de crescimento (Tx), por meio das fórmulas a seguir:

$$PIC = (DT - Dt) / (DT) * 100$$

Onde:

DT = Diâmetro da testemunha;

Dt = Diâmetro do tratamento

$$Tx = Df / N * 100$$

Onde:

Df = Diâmetro final da colônia;

N = Número de dias de incubação

A quantidade de esporos foi contada por unidade volumétrica, nas suspensões do inóculo e foi estimada, mediante o uso de câmara de Neubauer (TANAKA, 1987).

4.7. Identificação Molecular dos isolados do patógeno

O DNA dos isolados foi extraído pelo Instituto Biológico (Campinas – SP) conforme método descrito por Doyle; Doyle (1987) a partir do micélio crescido em meio de cultura (BDA). A amostra de DNA genômico extraído foi submetida à reação em cadeia pela polimerase (PCR) para amplificação da região ITS (internal transcribed spacer) do rDNA. Os oligonucleotídeos iniciadores para a região ITS foram ITS1 (5' – TCCGTAGGTGAACCTGCGG – 3') e ITS4 (5' – TCCTCCGCTTATTGATATGC – 3') (WHITE et al., 1990).

A mistura para a PCR consistiu de 1 µL de DNA, 1 µL de cada primer a 10 µM, 10 µL de tampão para PCR 5X, 1 µL de dNTPs a 10 mM, 0,2 µL de GoTaq DNA polimerase 5U/µL (Promega) e 35,8 µL H₂O MilliQ autoclavada, para um volume final de 50 µL. O programa de amplificação consistiu de desnaturação inicial a 94 °C/2 min seguida de 40 ciclos de desnaturação a 94 °C/10 s, anelamento a 54 °C/30 s, extensão a 72 °C/45 s, e extensão final a 72 °C/4 min. A verificação dos produtos amplificados foi realizada através de eletroforese em gel de agarose 0,8% corado com brometo de etídeo.

Os produtos amplificados foram purificados através de precipitação com polietilenoglicol (SCHMITZ; RIESNER, 2006), submetidos à reação de sequenciamento pelo método de terminação de cadeia empregando-se o reagente Big Dye 3.1 (Applied Biosystems) e analisados em sequenciador capilar automático 3500 XL (Applied Biosystems). Sequências similares às obtidas para os isolados do presente estudo foram encontradas no GenBank através da ferramenta Blastn. Foram selecionadas sequências de material identificado por pesquisadores com experiência reconhecida ou de isolados depositados em coleções oficiais.

Neste trabalho foram observados seis fungos que ocorreram em *O. ficus-indica* no município de Areia e estes foram identificados como sendo espécies de *Fusarium oxysporum* (3 isolados), *Fusarium oxysporum* f. sp., *cumini* (1 isolado), *Alternaria* sp. (1 isolado) e *Scytalidium hyalinum* (1 isolado).

Mesmo com as limitações da identificação de características morfológicas nas técnicas baseadas em PCR ou marcadores moleculares, a quantidade de análises das sequências de DNA para o reconhecimento de espécies, detecção de patógenos e estudo da diversidade de fungos, tem aumentado nos últimos anos.

Para os fungos, de forma geral, o marcador molecular que obteve maior aceitação entre os micologistas é a região do espaçador transcrito (“Internal Transcribed Spacer” – ITS) do DNA ribossômico, por ser de fácil amplificação, possuir uma variação interespecífica considerável, uma maior quantidade e representatividade de sequências no banco de dados, além de uma ampla comparação com uma enorme diversidade de espécies fúngicas (ALFENAS et al., 2016).

Os primers universais ITS1 e ITS4 são os mais comumente utilizados na amplificação (WHITE et al., 1990). As regiões ITS possui características interessantes para a identificação dos fungos em nível molecular, os quais são complementares às sequências altamente conservadas dos genes que codificam o rRNA. Outro atributo importante deve-se à característica repetitiva do rDNA, tornando essa região fácil de amplificar a partir de amostras pequenas, diluídas e altamente degradadas. Todavia, somente o uso da região ITS para codificar espécies não é suficiente, principalmente, quando a população analisada possui pequenas diferenças que as separem.

4.8. Análise de resultados

Para as variáveis de Índice de Velocidade Crescimento Micelial (IVCM), Percentagem de Inibição de Crescimento (PIC), Taxa de Crescimento (TX) e quantidade de esporos. Os dados foram submetidos à análise de variância. Foi utilizado teste de Turkey para todas as variáveis explicativas, com nível de significância de 5% de probabilidade transformação da raiz quadrada de $\sqrt{x} + 1$.

Os dados obtidos na avaliação da severidade foram utilizados para calcular a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) conforme Campbell; Madden (1990). Para os dados da AACPD, foi realizada uma análise de variância (ANOVA), e a discriminação da variação entre genótipos foi feita pelo teste de Duncan ao nível de 5% de probabilidade. Os dados de AACPD sofreram transformação do tipo $\sqrt{x+0,5}$.

Os fragmentos sequenciados foram analisados e comparados com sequências da base de dados do GenBank, sediado no National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), utilizando a ferramenta BLAST, (ALTSCHUL

et al., 1997). Aquelas sequências do GenBank que apresentaram os maiores escores foram selecionadas e alinhadas, juntamente com as sequências extraídas utilizando o programa BioEdit (HALL, 1999). A análise filogenética foi conduzida adotando-se o método de máxima parcimônia com geração de 10 possíveis árvores, pelo programa MEGA versão 6 (TAMURA et al., 2013).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O ambiente é um fator importante na interação patógeno-hospedeiro, podendo impedir que uma doença ocorra, mesmo havendo a suscetibilidade do hospedeiro ao patógeno (ZAMBOLIM et al., 2014). A definição de ambiente é aqui determinada envolvendo os fatores climáticos de umidade, precipitação e temperatura. Esses fatores ocorrem em função do efeito direto do ambiente sobre os patógenos.

Durante o período de condução do experimento em campo, o valor médio da umidade relativa do ar durante os meses avaliados foi de 78%. A alta umidade relativa do ar é necessária ao desenvolvimento da maioria das doenças causadas por fungos, por ser essencial na germinação e penetração das estruturas fúngicas. A precipitação média do município atingiu somente 3 milímetros, e os picos máximos de insolação sobre a área foram de 10h (INMET, 2017). Esses fatores reduzem a quantidade de água presente no solo.

A temperatura média durante todo o período de avaliação foi de aproximadamente 25°C. Sendo assim, o microclima formado nas parcelas de avaliação durante a condução do experimento em campo, não favoreceu o desenvolvimento natural de doenças, visto que, é necessário um microclima úmido, chuvoso e com temperaturas baixas (PASSAMANI et al., 2014; OLIVEIRA, 2016). A temperatura interage no desenvolvimento da doença no hospedeiro, influenciando na germinação, penetração da infecção no hospedeiro, sobrevivência e predisposição do hospedeiro.

Os resultados da análise de variância para os dados da área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), envolvendo todos os tratamentos, foram significativos ao nível de 5% de probabilidade ($0,01 \leq p < 0,05$). A precisão experimental avaliada pelo coeficiente de variação foi de 6,92%.

Quando foram utilizados os diferentes tratamentos (óleos essenciais e calda bordalesa) para controlar a incidência natural de patógenos de palma forrageira em campo, foi possível calcular a área de proteção de cada tratamento. Tendo como referência a AACPD, verificou-se que, a maior proteção foi obtida pelo óleo de cravo, com um valor de 21.14%, seguido por hortelã com 18.44%, alecrim com 16.73%, semente de uva com 13.3% e calda bordalesa com 12.85%. A maior severidade da doença foi atingida nas parcelas da testemunha, quando foi utilizada ADE (Figura 2).

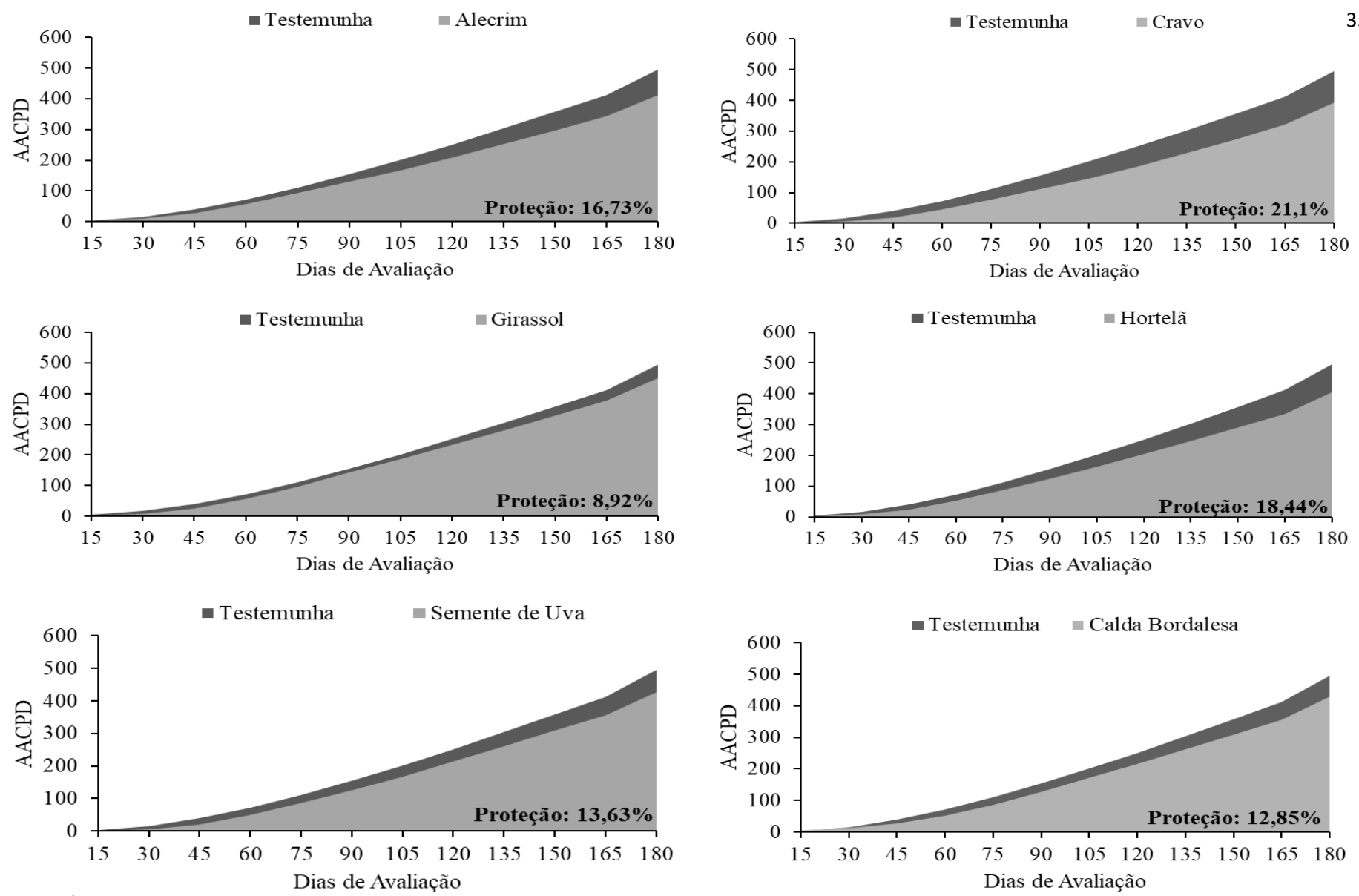


Figura 2. Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) com o valor de proteção (%) de cada tratamento em cladódios de palma forrageira (*Opuntia ficus-indica*) com incidência natural em campo. Universidade Federal da Paraíba – CCA, Areia/PB.

O ambiente tem efeito direto na ocorrência de doenças e sabe-se que as mudanças no clima causam alterações na sua ocorrência e intensidade dos fitopatógenos. Por exemplo, áreas até então livres de determinados patógenos poderão, no clima futuro, apresentar potencial risco de ocorrência (BETTIOL et al., 2017).

Os patógenos e as pragas são os primeiros organismos a evidenciar os efeitos das mudanças climáticas, já que possuem numerosas populações, facilidade de multiplicação e dispersão e o curto tempo entre gerações (SCHERM et al., 2000). Bebber et al., (2014) demonstraram que o aumento da temperatura causou a disseminação de centenas de pragas e patógenos em direção aos Polos, mas com variação significativa entre alguns grupos taxonômicos.

A calda bordalesa era comumente empregada no controle de doenças antes do advento de fungicidas orgânicos. Geralmente o fungicida orgânico é o tratamento mais eficiente no manejo da doença em diversos sistemas de plantio (DINIZ, 2006), todavia, ao contrário do demonstrado em da Silva (2017), onde a calda bordalesa aplicada em campo, não proporcionou resultado satisfatório no controle da antracnose e ganho de biomassa foliar, essa ineficiência pode estar associada ao sulfato de cobre ou condições inadequadas do pH que podem ser tóxicos ao vegetal ou afetam à eficiência bioativa do defensivo orgânico (MAZARO et al., 2013). Vale salientar que, a concentração ou a frequência de aplicações da calda podem ocasionar efeitos fitotóxicos à planta (DINIZ et al., 2006).

O óleo de cravo possui em sua composição substâncias como cinamaldeído, que atua como fungicida (SERPA et al., 2014). Outros trabalhos mostraram o efeito inibitório do óleo de cravo *in vivo*, como por exemplo, Silva (2007b) que avaliou a incidência do mal-do-panamá, em testes *in vivo* com extrato aquoso de cravo, comprovando que esse extrato foi o mais efetivo no controle da doença, apresentando uma redução do índice de 95,75%. (OLIVEIRA et al., 2016).

O efeito do óleo no controle da podridão também foi evidenciado por Bastos (2004), em frutos, através da redução da incidência e severidade da doença, em comparação com a testemunha. Venturoso et al., (2011) também comprovou a eficácia do óleo no controle de *Colletotrichum* sp., proporcionando uma supressão e redução no crescimento micelial.

A atividade no controle de doenças causadas por fungos com o óleo essencial está relacionada com sua hidrofobicidade, a qual os permite interagir com os lipídeos da parede, membrana celular e da mitocôndria, causando distúrbios nestas estruturas. Os

componentes do óleo podem ligar-se a íons e moléculas de outras células. É relatado também por Silva et al., (2003) que os antifúngicos naturais provocam danos à membrana celular das células expostas a eles, deixando-as extremamente solúveis e com fraturas grosseiras que acabam por expor o conteúdo celular, inclusive o núcleo. Esses dados podem justificar a atividade fungicida do óleo de cravo sobre o crescimento de *F. oxysporum* e *F. solani* (COSTA et al., 2011).

O ambiente tem efeito direto na ocorrência de doenças e sabe-se que as mudanças no clima causam alterações na sua ocorrência e intensidade dos fitopatógenos. Por exemplo, áreas até então livres de determinados patógenos poderão, no clima futuro, apresentar potencial risco de ocorrência (BETTIOL et al., 2017).

Os patógenos e as pragas são os primeiros organismos a evidenciar os efeitos das mudanças climáticas, já que possuem numerosas populações, facilidade de multiplicação e dispersão e o curto tempo entre gerações (SCHERM et al., 2000). Bebber et al., (2014) demonstraram que o aumento da temperatura causou a disseminação de centenas de pragas e patógenos em direção aos Polos, mas com variação significativa entre alguns grupos taxonômicos.

Na Tabela 2 estão apresentados os valores de Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), Percentagem de Inibição de Crescimento (PIC), Taxa de Crescimento (TX) e ESPORULAÇÃO, utilizando os óleos essenciais e a calda bordalesa como tratamentos no controle de *F. oxysporum* nas condições testadas.

Tabela 2. Valores médios de Índice de Velocidade de Crescimento Micelial (IVCM), Percentagem de Inibição de Crescimento (PIC), Taxa de Crescimento (TX) e ESPORULAÇÃO de *Fusarium oxysporum* in vitro tratados com óleos essenciais.

TRATAMENTO*	IVCM	PIC (%)	TX (%)	ESPORULAÇÃO
Alecrim	1.49b	6.42c	8.61b	31.42d
Cravo	2.02cd	2.47b	11.05c	25.85cd
Girassol	2.02cd	2.14b	11.15c	22.96bc
Hortelã	1.0 a	10.04d	1.0a	1.0a
Semente de Uva	2.09d	2.02ab	11.14c	26.38cd
Calda Bordalesa	1.92c	1.72ab	11.25c	15.19b
Testemunha (ADE)	2.09d	1.0a	11.38c	30.44cd

CV (%)	5.37	22.46	4.98	20.47
--------	------	-------	------	-------

Valores médios seguidos de letras iguais não diferem estatisticamente pelo teste de Turkey com transformação de raiz quadrada de $x + 1$, com nível de significância de $p < 0,05$.

O óleo de hortelã inibiu completamente o patógeno estudado não apresentando crescimento do fungo nem produção de esporos. Trabalhos realizados por Nascimento et al., (2016), afirmaram que o óleo de hortelã também inibiu completamente isolados de *Fusarium* sp. Outros trabalhos comprovam o controle do óleo em outras culturas e em diferentes concentrações, como Mehrparvar et al., (2016) que observaram a atividade inibitória do óleo de hortelã em *Lecanicillium fungicola* var. *fungicola* e *Agaricus bisporus* (NASCIMENTO et al., 2016).

Para a taxa de crescimento micelial, além do óleo de hortelã, o óleo de alecrim também diferiu estatisticamente da calda bordalesa. Para a variável PIC, hortelã e cravo, mesmo sendo diferentes estatisticamente, foram os óleos que mais controlaram o *F. oxysporum* nas condições testadas.

Os óleos de cravo e girassol, apresentaram controle intermediário e não diferiram estatisticamente do fungicida. Os resultados apresentados corroboram com o teste realizado por (UGULINO, 2017), que demonstrou o potencial inibitório do óleo de hortelã, sobre o crescimento micelial de *M. phaseolina*. Abdel-Kader et al., (2011), que comprovaram o efeito do óleo de hortelã na redução do crescimento micelial de *M. phaseolina*, nas concentrações de 1,0, 2,0 e 4,0 %.

A inibição na produção de esporos do isolado foi influenciada principalmente pelo óleo de hortelã e a calda bordalesa, entretanto, ambas diferiram estatisticamente. Os demais tratamentos não diferiram estatisticamente da testemunha. Pode-se considerar que não houve efeito significativo dos óleos de alecrim, cravo, girassol e semente de uva para a esporulação de *F. oxysporum*.

Nem todos os óleos essenciais funcionam como inibidores diretos de patógenos, ou seja, não possuem efeito fungitóxico ou fungistático. Esse efeito pode ser observado diretamente na planta ou no fruto, à medida que o tratamento retarda o aparecimento dos sintomas da doença (SOUSA et al., 2012b). O tratamento óleo de semente de uva, não apresentou resultados satisfatórios, não possuindo efeito fungitóxico para o *F. oxysporum*, como também para outros isolados, como relatado por Sousa et al., (2012b).

Segundo Schawn-Estrada et al., (2003) os princípios ativos existentes nos óleos essenciais podem atuar diretamente sobre a cutícula do patógeno, alterando sua

permeabilidade ou então, possuírem mecanismos indutores de resistência envolvendo a ativação de estruturas de defesa latentes existentes nas plantas.

Foram identificados 6 isolados patogênicos que infectam a raquete de palma em condições de campo. Quatro desses isolados foram identificados como pertencentes ao gênero *Fusarium*, onde 3 destes puderam ser identificados a nível de espécie, sendo eles 2 *Fusarium oxysporum* e 1 isolado *Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini*. Os outros dois isolados foram identificados como *Scytalidium hyalinum* e *Alternaria tenuissima*.

Observou-se uma politomia entre os isolados 1, 2, 3 e 4 foram alocados no mesmo grupo que as espécies *F.oxysporum*. Havendo uma aproximação do isolado 4 com o patógeno *F. oxysporum* f. sp. *cumini*. Na árvore também podemos identificar que o isolado 5 está próximo de *S. hyalinum*, que se apresentou como um grupo-irmão de *Neocyrtalidium hyalinum*. O isolado 6, pareceu-se com *Alternaria*, estando bem próxima de *Alternaria tenuissima* (Figura 4).

O suporte dos valores de *bootstrap* para a politomia que ocorreu em *F.oxysporum* foi de 57%, para o cluster de *Alternaria*, o suporte foi de 72% e para o cluster de *Scytalidium* foi de 47%. Quanto maior o valor do cluster, mais correto está a posição das espécies na árvore filogenética.

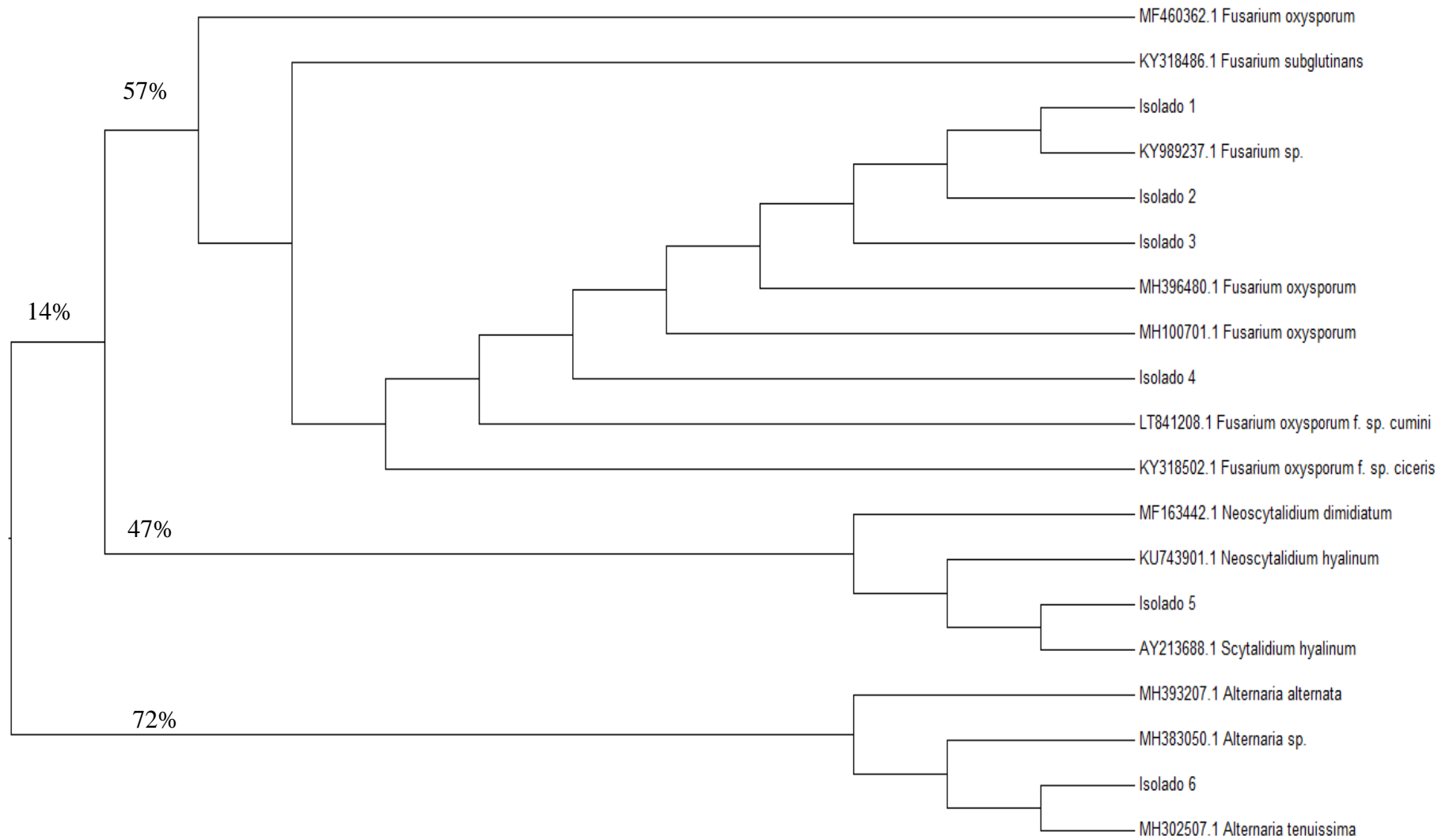


Figura 3. Dendrograma baseado no método de máxima parcimônia derivado das sequências da região ITS do rDNA, com base em 10 réplicas. O valor de bootstrap dos 6 isolados de *Opuntia ficus-indica* e de sequências obtidas no GenBank de diferentes isolados.

Dessa forma, a escolha da região ITS ao identificar os isolados não foi suficiente, já que os valores de bootstrap não foram altos. Vale salientar que, a confiabilidade de suporte de um claro, o valor de bootstrap deve estar próximo aos 100%, entretanto, valores acima de 50% já possuem valores de suporte aceitável.

As técnicas biomoleculares são importantes ferramentas auxiliares na taxonomia e caracterização de isolados fungicos, o que dá suporte na identificação das espécies. Diferente da sistemática tradicional, a filogenia estuda as relações evolucionárias ao utilizar a biologia molecular, ou seja, a alta similaridade existente nas características morfológicas de grupos de patógenos, faz com o que a identificação molecular se torna uma alternativa segura e confiável (MONTEIRO, 2004).

Ao se conhecer os patógenos da cultura, é possível mensurar alternativas mais eficazes para seu controle, visto que, há muitas informações sobre o manejo direcionado a grupos superiores.

6. CONCLUSÃO

Sob condições de campo, o óleo de cravo foi eficiente contra incidência de patógenos. O óleo de hortelã foi o único que inibiu o crescimento e esporulação do patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *cumini* testado *in vitro*.

Os patógenos isolados de palma forrageira gigante no município de Areia foram: *Fusarium oxysporum*, *Scybalidium hyalinum*, e *Alternaria tenuissima*. Deve-se utilizar outras regiões, além da região ITS, para enraizar os isolados e aumentar o valor de bootstrap.

7. REFERENCIAS

- ABDEL-KADER, MOKHTAR; EL-MOUGY, NEHAL; LASHIN, SIRAG. Essential oils and *Trichoderma harzianum* as an integrated control measure against faba bean root rot pathogens. **Journal of Plant Protection Research**, v. 51, n. 3, p. 306-313, 2011.
- ADLI, B.; BOUTEKRABT, A.; TOUATI, M.; BAKRIA, T.; TOUATI, A.; BEZINI, E. Phenotypic diversity of *Opuntia ficus-indica* (L.) MILL in the Algerian steppe. **South African Journal of Botany**, v. 109, pág. 66-74, 2017.
- ALFENAS, A.C.; MAFIA, R.G. Métodos em Fitopatologia. Editores Acelino Couto Alfenas, Reginaldo Gonçalves Mafia. 2. ed. Viçosa (MG): Editora UFV, 2016.
- ALMEIDA, E. S. **Diagnóstico da pecuária leiteira dos municípios de Batalha, Major Izidoro e Craíbas do Estado de Alagoas**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Federal de Alagoas. Centro de Ciências Agrárias, Rio Largo, p. 64, 2012.
- ALTSCHUL, S. F. et al. Gapped BLAST and PSIBLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, v. 25, p. 3389-3402, 1997.
- AMMAR, M.I.; SHLTOUT, A.M.; KAMHAWAY, M.A. Cladode and fruits rots of prickly pear (*Opuntia ficus-indica* L. Mill.) in Egypt. **Egypt. J. Phytopathol**, v.32, pág. 119–128. 2004.
- ASSAD, E. D.; MARTINS, S. M.; BELTRÃO, N. E. M.; PINTO, H. S. Impacts of climate change on the agricultural zoning of climate risk for cotton cultivation in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.48, p.1-8, 2013.
- BAAYEN, R. P.; O'DONNELL, K.; BONANTS, P. J. M.; CIGELNIK, E.; KROON, L. P. N. M.; ROEBROECK, E. J. A.; WAALWIJK, C. Gene genealogies and AFLP analyses in the *Fusarium oxysporum* complex identify monophyletic and nonmonophyletic *formae speciales* causing wilt and rot disease. **Ecology and Population Biology**, v. 90, n. 8, pág. 891-900. 2000.
- BALMAS, V.; SCHERM, B.; MARCELLO, A.; BEYER, M.; HOFFMANN, L.; MIGHELI, Q.; PASQUALI, M. *Fusarium* species and chemotypes associated with Fusarium head blight and Fusarium root rot on wheat in Sardinia. **Plant Pathology**, 64, 972–979. 2015.
- BASTOS, C.N.; ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeitos do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Marituba, PA. v. 29, n. 5, p. 555-557, 2004.
- BATISTA, M. C.; SANTOS, J. P. O.; SILVA FILHO, J. A.; SOUSA, J. I.; FELIX, R. J. S.; SILVA, J. L. C. Influence of rainfall variability on bean production (*Phaseolus vulgaris* L.) in a municipality of Brazilian semiarid. *Journal of Environmental Analysis and Progress*, v. 3, n. 1, p. 001-007, 2018.
- BEBBER, D. P.; HOLMES, T.; GURR, S. J. The global spread of crop pests na pathogens. **Global Ecology and Biogeography**, v. 23, n. 12, p. 1398-1407, 2014.

BETTIOL, W.; HAMADA, E.; AUAD, A. M.; GHINI, R. **Aquecimento global e problemas fitossanitários**. Embrapa, 2017.

BEZERRA, B. G.; ARAÚJO, J. S.; PEREIRA, D. D.; LAURENTINO, G. Q.; SILVA, L. L. Zoneamento agroclimático da palma forrageira (*Opuntia* sp.) para o estado da Paraíba. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.18, n.7, p.755–761, 2014.

BNB – BANCO DO NORDESTE DO BRASIL. Notas sobre a cultura da palma forrageira no Nordeste. Fortaleza, 1959.

BRAVO HOLLIS, H.; SCHEINVAR, L. **El interesante mundo de las cactáceas**. Mexico, National Council of Science and Technology. 1995.

CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. (Ed.). **Introduction to plant disease epidemiology**. New York, NY: Wiley. 532p, 1990.

CASAS, A.; BARBERA, G. Mesoamerican domestication and diffusion. In P.S. Nobel, ed. **Cacti: Biology and uses**, pp.143–162. Berkeley, CA, USA, University of California Press. 2002.

CHIACCHIO, F. P. B.; MESQUITA, A. S.; SANTOS, J. R. dos Palma forrageira: uma oportunidade econômica ainda desperdiçada para o Semiárido baiano. **Revista Bahia Agrícola**. Salvador. Bahia: SEAGRI/BA. v. 7, n. 3, nov. p.39-49. 2006.

COLEMAN, J.J. The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. **Molecular Plant Pathology**, v.17, n. 2, p.146-158, 2016.

COOPER, P.J.M.; LEAKEY, R.R.B.; RAO, M.R.; REYNOLDS, L. Agroforestry and the mitigation of land degradation in the humid and sub-humid tropics of Africa. **Experimental Agriculture**, 32: 235-290. 1996.

COSTA, A. R. T.; AMARAL, M.F.Z.J.; MARTINS, P.M.; PAULA, J.A.M.; FIUZA, T.S; TRESVENZOL, L.M. F.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Ação do óleo essencial de *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry sobre as hifas de alguns fungos fitopatogênicos. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.13, n.2, p.240-245, 2011.

DA SILVA, D. F.; ARAÚJO NETO, S. E.; FERREIRA, R. L. F.; RIBEIRO, S. A. L.; DA SILVA, R. S.; DA SILVA, N. M. Controle alternativo da antracnose em cebolinha orgânica cultivada em ambiente protegido e campo. **Agropecuária Científica no Semiárido**, v. 13, n. 3. 2017.

DINIZ, L.P.; MAFFIAL, L.A.; DHINGRAL, O.D.; CASALI, V.W.D.; SANTOS, R.H. S.; MIZUBUTIL, E.S.G. Avaliação de produtos alternativos para controle da requeima do tomateiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.31, n.2, 2006.

DINIZ, S. P. S. S.; COELHO, J. S.; ROSA, G. S.; SPECIAN, V.; OLIVEIRA, R. C.; OLIVEIRA, R. R. Bioatividade do óleo essencial de *Mentha arvensis* L. no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.4, p.9-11, 2008.

DOYLE, J. J. AND J. L. DOYLE. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15. 1987.

FIALHO, R. O.; PAPA, M. F. S.; PEREIRA, D. A. S. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Phakopsora euvitis*, agente causal da ferrugem da videira. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.82, p. 1-7, 2015.

FIGUEIREDO, S.V. **A palma forrageira como agente mitigador da desertificação no Seridó Oriental: Juazeirinho – PB.** Dissertação (Mestrado em Recursos Naturais)Campina Grande, PB: Universidade Federal de Campina Grande – UFCG. 115f. 2010.

FONSECA, M. C. M.; LEHNER, M. S.; GONÇALVES, M. G.; PAULA JÚNIOR, T. J. SILVA, A. F.; BONFIM, F. P. G.; PRADO, A. L. Potencial de óleos essenciais de plantas medicinais no controle de fitopatógenos. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.17, n.1, p.45-50, 2015.

Food and Agriculture Organization of the United Nations and the International Center for Agricultural Research in the Dry Areas Rome. IN: IX INTERNATIONAL CONGRESS ON CACTUS PEAR AND COCHINEAL CAM crops for a hotter and drier world Coquimbo, Chile, 2017.

FOURIE G.; STEENKAMP, E. T.; GORDON, T. R.; VILJOEN, A. Evolutionary relationships among the *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. *Applied Environmental Microbiology* v. 75, pág. 4770-4781. 2010.

FREIRE, K.T.L.S.; ARAÚJO, G.R.; BEZERRA, J.D.P.; BARBOSA, R.N.; SILVA, D.C.V.; SVEDESE, V.M.; PAIVA, L.M.; SOUZA-MOTTA, C.M. Fungos endofíticos de *Opuntia Ficus-Indica* (L.) Mill. (Cactaceae) sadia e infestada por *Dactylopius opuntiae* (Cockerell, 1896) (Hemiptera: Dactylopiidae). *Gaia scientia*, v.9, n.2, 2015.

GRANATA, G. Doenças bióticas e abióticas. In: BARBERA, G.; INGLESE, P.;PIMIANTA-BARRIOS, E. (Ed.). Agroecologia, cultivo e usos da palma forrageira. João Pessoa: FAO/ SEBRAE/PB, p.112-122. 2001.

GRANATA, G.; SIDOTI, A. Survey of Diseases Discovered on *Opuntia ficus-indica* in Producer Countries. *Acta Hort*, v. 581, ISHS. 2002.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41:95-98.1999.

HAWKSWORTH, D. L.; KIRK, P. M.; SUTTON. B. C.; PEGLRE, D. N. **Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi.**8.ed. CAB International: Oxon, UK. 1995.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA - (INMET). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Gráficos Climatológicos. Disponível em <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/graficosClimaticos>>..Acesso em: 26 jul. 2017.

ISHIDA, A.K.N.; AMARAL, M.A.C.M.; GURGEL, E.S.C.; TREMACOLDI, C.R.; SOUSA FILHO, A.P. **Atividade antifúngica de óleos essenciais de espécies de Copaifera sobre *Fusarium solani* f. sp. *piperis*** Albuquerque. In: Congresso Brasileiro

de Defensivos Agrícolas Naturais, 6., 2008, Belém. Anais. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, p.47.2008.

JUNIOR, V.A. M. **Doenças bacterianas em tomateiro: etiologia e controle**. Instituto Agronômico, Campinas, SP, 2004.

KIESLING, R. **Origen, domesticación y distribución de *Opuntia ficus-indica***. J. Prof. Assoc. Cactus Dev., 3: 50–59. 1999.

KIM, W.G., CHO, W.D., JEE, H.J. & HONG, S.Y. Occurrence of anthracnose on indian fig cactus caused by *Glomerella cingulata* and *Colletotrichum gloeosporioides*. **Plant Pathol. J.**, 16: 294–296. 2000.

KIMURA, A. A. **IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE *Candida* spp. EM AMOSTRAS DE PACIENTES USUÁRIOS DE PRÓTESES DENTÁRIAS POR MEIO DE PCR -MULTIPLEX**. Monografia. UNICESUMAR. MARINGÁ – PR. 2017.

KNAAK, N.; FIUZA, L. M. Potential of essential plant oils to control insects and microorganisms. **Neotropical Biology and Conservation.**, v. 5, ed. 2, p. 120-132, may-august, 2010.

KOTOWICZ, N. K.; FRĄC, M.; LIPIEC, J. The importance of *Fusarium* fungi in wheat cultivation–pathogenicity and mycotoxins production: a review. **J Anim Plant Sci**, v. 21, n. 2, p. 3326-3243, 2014.

KUZDRALIŃSKI, A.; NOWAK, M.; SZCZERBA, H.; DUDZIAK, K.; MUSZYŃSKA, M.; LEŚNIEWSKA-NOWAK, J. The composition of *Fusarium* species in wheat husks and grains in south-eastern Poland. **Journal of Integrative Agriculture**. 16(7): 1530–1536. 2017.

LASRAM, S. et al. Water activity and temperature effects on fungal growth and Ochratoxin A production by ochratoxigenic *Aspergillus carbonarius* isolated from Tunisian grapes. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 75, n. 2, p. M89-M97, Apr. 2010.

LAZAROTTO, M. **Identificação e caracterização de *Fusarium* spp., e *Pestalotiopsis* spp., associados a *Carya illinoensis* no Rio Grande do Sul**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria – RS, 2013.

LESLIE, J. F.; SUMMERELL, B. A. **The *Fusarium* Laboratory Manual**. Blackwell.,Oxford. 2006.

LIMA, P. F. U. **Sistema de cultivo adensado da palma forrageira sob adubação organo-mineral**. Dissertação (Mestrado). Patos: UFCG, 46p. 2011.

LINDOSO, D.; EIRÓ, F.; ROCHA, G. D. Desenvolvimento Sustentável, Adaptação e Vulnerabilidade à Mudança Climática no Semiárido Nordeste: Um Estudo de Caso no Sertão do São Francisco Rev. Econ. NE, Fortaleza, v. 44, n. especial, p. 301-332, jun. 2013.

- LIRA, M. A.; SANTOS, M. V. F.; CUNHA, M. V.; MELLO, A. C. L.; FARIAS, I.; SANTOS, D. C. A palma forrageira na pecuária do semi-árido. In: GOMIDE, C. A. M.; RANGEL, J. H. A.; MUNIZ, E. N.; ALMEIDA, S. A.; SÁ, J. L.; SÁ, C. O. (Eds). **Alternativas alimentares para ruminantes**. Aracaju: Embrapa Tabuleiros Costeiros, p.17-33. 2006.
- LIRA, M. A.; SANTOS, M. V. F.; DIAS, F. M.; FERRAZ, A. P. F.; SILVA, M. C.; CUNHA, M. V.; MELLO, A. C. L.; DUBEUX JUNIOR, J. C. B.; SANTOS, D. C.; FREITAS, E.V.; ARRUDA, D. M. P. Palma forrageira: Cultivos e Usos. **Cadernos do Semiárido: riquezas e oportunidades**. CREA – PE. 2017.
- LOPES, E.B. (Org.). **Palma forrageira: cultivo, uso atual e perspectivas de utilização no Semiárido nordestino**. João Pessoa: EMEPA-PB, 2012.
- ŁUKANOWSKI, A.; SADOWSKI, C. Occurrence of *Fusarium* on grain and heads of winter wheat cultivatea in organic, integrated, conventional systems and monoculture. **Journal of Applied Genetics** 43: 73-82. 2002.
- MACHADO, B. I. CONTROLE DA PODRIDÃO AZEDA EM FRUTOS CÍTRICOS ATRAVÉS DE MÉTODOS ALTERNATIVOS. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos. Araras. 2018.
- MAZARO, S. M.; MANGNABOSCO, M. C.; CITADIN, I.; PAULUS, D.; GOUVÊA, A. DE. Produção e qualidade de morangueiro sob diferentes concentrações de calda bordalesa, sulfocálcica e biofertilizante supermagro. *Semina*. **Ciências Agrárias**, v. 34, p. 3285, 2013.
- MEDEIROS, S. R. R.; MOURA, G. B. A.; GIONGO, P. R.; SILVA, A. P. N. Potencial agroclimático para a *Alpinia purpurata*, no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, p.165-169, 2009.
- MEHRPARVAR, M.; GOLTAPPEH, E. M.; SAFAIE, N.; ASHKANI, S.; HEDESH, R. M. Antifungal activity of essential oils against mycelial growth of *Lecanicillium fungicola* var. *fungicola* and *Agaricus bisporus*. **Industrial Crops and Products**, Leiden, v.84, n. 1, p.391-398, 2016.
- MILLEZI, A. F.; BAPTISTA, N. N.; CAIXEDA, D. S.; ROSSONI, D. F.; CARDOSO, M. G.; PICCOLI, R. H. Caracterização química e atividade antibacteriana de óleos essenciais de plantas condimentares e medicinais contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.16, n.1, p.18-24, 2014.
- MITCHELL, P. L. Heteroptera as Vectors of Plant Pathogens. **Neotropical Entomology**v. 33, ed. 5, pág. 519-545. 2004.
- MONTEIRO, A. S. **Análise genômica e sequenciamento automático de rDNA em populações de *Furarium oxysporum***. Dissertação (Mestrado). Maceió – AL. 2004.
- MONTIES, B. Lignins. In: DEY, P. M.; HARBORNE, J. B. (Ed). **Methods in plant biochemistry**. New York: Academic , p. 113-158. 1989.

MOURA, M. S. B.; SOUZA, L. S. B.; SILVA, T. G. F.; Sá, I. I. S. **Zoneamento agroclimático da palma forrageira para o estado de Pernambuco**. Petrolina: Embrapa Semiárido. 26p. Documentos 242. 2011.

MOURELLE, C.; EZCURRA, E. Differentiation diversity of Argentine cacti and its relationship to environmental factors. **Journal of Vegetation Science**, v. 8, pág. 547–558. 1997.

NASCIMENTO, D. M.; VIEIRA, G. H. C.; KRONKA, A. Z. Inibição do crescimento micelial de *Fusarium solani* f. sp. *glycines*. **Revista de Agricultura Neotropical**, Cassilândia-MS, v. 3, n. 4, p. 65-68, out./dez. 2016.

NEVES, A. L. A.; PEREIRA, L. G. R.; SANTOS, R. D. Manejo nutricional de vacas em lactação. In: CARVALHO, G. R.; CARNEIRO, A. V.; YAMAGUCHI, L. C. T.; MARTINS, P. C.; HOTT, M. C.; REIS FILHO, R. J. C.; OLIVEIRA, M. A. (Eds.). **Competitividade da cadeia produtiva do leite em Pernambuco**. Juiz de Fora, MG: Embrapa Gado de Leite, p.185-203. 2009.

NOBEL, P. S.; HARTSOCK, T. L. Physiological responses of *Opuntia ficus-indica* to growth temperature. **Physiologia Plantarum**, v.60, p.98-105, 1984.

NOBEL, P. S. **Remarkable agaves and cacti**. New York: Oxford University Press, 116p. 1994.

NOBEL, P.S. Ecophysiology of *Opuntia ficus-indica*. In C. Mondragón Jacobo & S. Pérez González, eds. Cactus (*Opuntia* spp.) as forage, pp. 13–19. **FAO Plant Protection and Production Paper** No. 169. Rome, FAO, 2001.

NOBRE, C. P.; FERRAZ JÚNIOR, A. S. L.; GOTO, B. T.; BERBARA, R. L. L.; NOGUEIRA, M. D. C. Fungos micorrízicos arbusculares em sistema de aléias no Estado do Maranhão, Brasil. **Acta Amazonica**.VOL. 40, n. 4, p. 641 – 646. 2010.

NUNES, E. L.; AMORIM, R. C. F.; SOUZA, W. G.; RIBEIRO, A.; SENNA, M. C. A.; LEAL, B. G. Zoneamento agroclimático da cultura do café para a Bacia do Rio Doce. **Revista Brasileira de Meteorologia**, v.22, p.297-302, 2007.

O'DONNELL, K.; GUEIDAN, C.; SINK, S.; JOHNSTON, P.R.; CROUS, P.W.; GLENN, A.; RILEY, R.; ZITOMER, N.C.; COLYER, P.; WAALWIJK, C.; VAN DER LEE, T.; MORETTI, A.; KANG, S.; KIM, H.S.; GEISER, D.M.; JUBA, J.H.; BAAYEN, R.P.; CROMEY, M.G.; BITHHELL, S.; SUTTON, D.A.; SKOVGAARD, K.; PLOETZ, R.; KISTLER, H.C.; ELLIOTT, M.; DAVIS, M.; SARVER, B.A.J. A two-locus DNA sequence database for typing plant and human pathogens with in the *Fusarium oxysporum* species complex. **Fungal Genetics Biology**., v. 46, pág. 936-948. 2009.

OLIVEIRA, J. A. **Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativa* L.) e pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. 111 f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade) – Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, 1991.

OLIVEIRA, V. C.; COSTA, J. L. S. ANÁLISE DE RESTRIÇÃO DE DNA RIBOSSOMAL AMPLIFICADO (ARDRA) PODE DIFERENCIAR *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* DE *F. solani* f. sp. *glycines*. **Fitopatol. bras.**, v. 27, ed. 6, nov – dez. 2002.

OLIVEIRA, E. S.; VIANA, F. M. P.; MARTINS, M. V. V. Alternativas a fungicidas sintéticos no controle da antracnose da banana. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 42, n. 4, p. 340-350, 2016.

OLIVEIRA, G. **Incidência de fungos do gênero *Aspergillus* seção *Circumdati* e *Nigri* em grãos de café cultivados em Minas Gerais e o efeito in vitro de fatores abióticos no crescimento e na biossíntese de ocratoxina.** Tese (Doutorado). Lavras: UFLA, 97 p. 2016.

ONO, E. Y. S. *Fusarium verticillioides* strains isolated from corn feed: characterization by fumonisin production and RAPD fingerprinting. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 53, n.4. 2010.

ORTEGA, B.P.; SÜHRING, S.; SAJAMA, J.; SOTOLA, E.; ALONSO, P.M.; BRAVO, S.; GODÍNEZ, A.H. Diversity and Conservation in the Cactus Family. In: Ramawat, K.G. (Ed.), **Desert Plants Biology and Biotechnology**. Springer, pp. 157–173. 2010.

OSADA, K.S. & CÁRCAMO, R.A. Etiología de la mancha negra del nopal. Memorias de Resúmenes, Congreso Nacional de Fitopatología. Sociedad Mexicana de Fitopatología, Mexico. 28 pp. 1991.

PASSAMANI, F. R. et al. Effect of temperature, water activity, and pH on growth and production of ochratoxin A by *Aspergillus niger* and *Aspergillus carbonarius* from Brazilian Grapes. **Journal of Food Protection**, Des Moines, v. 77, n. 11, p. 1947-1952, Nov. 2014.

PASSOS, J.L.; BARBOSA, L.C.A.; DEMUNER, A.J.; ALVARENGA, E.S.; SILVA, C.M. da; BARRETO, R.W. Chemical Characterization of Volatile Compounds of *Lantana camara* L. and *L. radula* S w. and Their Antifungal Activity. **Molecules**, v.17, p.11447-11455, 2012.

PAULA JUNIOR, T.J.; MORANDI, A.B.; VEZON, M. **Manejo Integrado de Doenças e Pragas utilizando o controle biológico.** IN: DE ALMEIDA HALFELD-VIEIRA, Bernardo et al. Defensivos Agrícolas Naturais: uso e perspectivas. Brasília, DF: Embrapa, E-book no formato PDF. 2016.

PAULUS, G., MÜLLER, A.M. BARCELLOS, L.A.R. **Agroecologia aplicada: práticas e métodos para uma agricultura de base ecológica.** Porto Alegre: EMATER-RS, 2001.

PEIXINHO, G. S.; RIBEIRO, V. G.; AMORIM, E. P. R. Ação do óleo essencial de menta (*Mentha arvensis*) sobre o patógeno *Lasiodiplodia theobromae* em cachos de videira cv. Itália. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 43, n. 1, p. 32-35, 2017.

POSSAS, J. M. C.; CORREA, M. M.; MOURA, G. B. A.; LOPES, P. M. O.; CALDAS, A. M.; FONTES JÚNIOR, R. V. P. Zoneamento agroclimático para a cultura do pinhão-manso no Estado de Pernambuco. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.16, p.993-998, 2012.

PUPO, M.S.; ALVES, E.S.S.; SANTOS, R.B.; VENTURA, J.A.; FERNANDES, P.M.B. Antifungal activity of monoterpenes against the plant pathogens *Colletotrichum gloesporioides*, *Colletotrichum musae*, *Fusarium subglutinans* f.sp. *ananas*. Washington: **Applied and Environmental Microbiology**, 2003.

RESENDE, M. L. V.; CAVALCANTI, F. R.; SANTOS, F.S.; AMARAL, D. R.; RIBEIRO JÚNIOR, Pedro Martins; COSTA, J. C. B.; CAMILO, F.R.; ISHIDA, A. K. N.; SOUZA, R. M. **Novos indutores de resistência contra doenças em cafeeiro, cacauieiro, algodoeiro e tomateiro: perspectivas de utilização**. In: Universidade Federal de Viçosa. (Org.). Indução de Resistência em Plantas a Patógenos (Capítulo 8). Visconde do Rio Branco, MG: Suprema Gráfica e Editora Ltda, 1: 161-182. 2007.

SALGADO, A.P.S; CARDOSO, M.G.; SOUZA, P.E.; SOUZA, J.A.; ABREU, C.M.P; PINTO, J.E.B.P. Avaliação da atividade fungitóxica de óleos essenciais de folhas de *Eucalyptus* sobre *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* e *Bipolaris sorokiniana*. **Ciência Agrotécnica**, Lavras, v.27, n.2, p.249-254, mar./abr, 2003.

SANTOS, D.C.; FARIAS, I.; LIRA, M.A.; SANTOS, M.V.F.; ARRUDA, G.P.; COELHO, R.S.B.; DIAS, F.M.; MELO, J.N. **Manejo e utilização da palma forrageira (*Opuntia* e *Nopalea*) em Pernambuco**. Recife: IPA,. 48p. (IPA. Documentos, 30), 2006.

SANTOS, D. C. dos; ARAÚJO, L. de F.; LOPES, E. B.; VASCONCELOS, M. F. de. Usos e aplicações da palma forrageira. In: LOPES, E. B. **Palma Forrageira: cultivo, uso atual e perspectivas de utilização no Semiárido nordestino**. 1 ed. João Pessoa: EMEPA-PB, p: 99-150. 2012.

SARMENTO-BRUM, R.B.C.; SANTOS, G.R.; CASTRO, H.G.; GONÇALVES, C.G.; JUNIOR, A.F.C.; NASCIMENTO, I.R. Efeitos de óleos essenciais de plantas medicinais sobre a antracnose do sorgo. **Biociencia Journal**, Uberlândia, v. 19, supplement 1, p. 1549-1557, 2013.

SCHERM, H.; SUTHERST, R. W.; HARRINGTON, R.; INGRAM, J. S. I. Global networking for assessment of impacts of global change on plant pests. **Environmental Pollution**, v. 108, n. 3, p. 333-341, 2000.

SCHMITZ, A.; RIESNER, D. Purification of nucleic acids by selective precipitation with polyethylene glycol 6000. **Analytical Biochemistry**, v.354, p.311-313, 2006.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. **Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas**. Mesa Redonda do XXXVI Congresso Brasileiro de Fitopatologia. Uberlândia: Fitopatologia Brasileira, v. 28, p. 554-556, 2003.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., STANGARLIN, JR. **Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência**. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P. et al. (Eds.). Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: FEALQ. p. 125-132, 2005.

SERPA, M. F. P.; CASTRICINI, A.; MITSUBUZI, G. P.; MARTINS, R. N.; BATISTA, M. F.; de ALMEIDA, T. H. Conservação de manga com uso de fécula de

mandioca preparada com extrato de cravo e canela. **Rev. Ceres, Viçosa**, v. 61, n.6, p. 975-982, nov/dez, 2014.

SIKKEMA, J.; BONT, J.A.M.; POOLMAN, B. Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons. **Microbiological Reviews**, v.59, n.2, p.201-22, 1995.

SILVA, S.R.S. et al. Análise de constituintes químicos e da atividade antimicrobiana do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* Cheel. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.6, p.63-70, 2003.

SILVA, R. M. A. da. Entre o Combate à Seca e a Convivência com o Semi-Árido: políticas públicas e transição paradigmática. **Revista Econômica do Nordeste**, Fortaleza, v. 38, n. 3, p: 466-485, 2007a.

SILVA, J.C. **Uso de óleos essenciais, extratos e indutores de resistência no controle alternativo do mal-do-Panamá da bananeira**. 66f. Dissertação (Mestrado em Agronomia; Produção Vegetal; Proteção de Plantas)- Universidade Federal de Alagoas, Rio Largo. 2007b.

SILVA, J.A.; BONOMO, P.; DONATO, S.L.R.; PIRES, A.J.B.; ROSA, R.C.C.; DONATO, P.E.R. Composição mineral em cladódios de palma forrageira sob diferentes espaçamentos e adubações químicas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v.7, 866-875, 2012a.

SILVA, A.C.; DE SOUZA, P.E.; PINTO, J.E.B.P.; DA SILVA, B.M.; AMARAL, D.C.; CARVALHO, E.A. Essential oils for preventative treatment and control of Asian soybean rust. **European Journal of Plant Pathology**. v.134, p.865–871, 2012b.

SILVA, R. R.; SAMPAIO, E. V. S. B. *Opuntia ficus-indica* and *Nopalea cochenillifera* cacti: production systems and uses. **Revista GEAMA**, Recife, v.2, n.1, mês – setembro – 2015.

SILVA, T. C. **LINHAGENS FILOGENÉTICAS DO COMPLEXO *Fusarium oxysporum* E *Fusarium udum* ASSOCIADAS À MURCHA DO MARACUJAZEIRO**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Lavras – UFLA. Lavras - Minas Gerais. 2016.

SILVA, E. O.; ALVES, E.; FERREIRA, T. C.; ALBUQUERQUE, C. A. C. Óleos essenciais no controle da pinta bacteriana e na ativação de respostas bioquímicas em tomateiro. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 43, n. 3, p. 212-217, 2017.

SMITH, C.J. Accumulation of phytoalexins: defense mechanisms and stimulus response system. **The New Phytologist**, v. 132, p. 1-45. 1996.

SNYDER, W.C. & HANSEN, H.N. Species concept, genetics, and pathogenicity in *Hypomyces solani*. **Phytopathology** v. 44. 1953.

SNYMAN, H. A. A greenhouse study on root dynamics of cactus pears, *Opuntia ficus-indica* and *O. robusta*. **Journal of Arid Environments**, v.65, p.529-542, 2006.

SNYMAN, H. A. Growth rate and water-use efficiency of cactus pears *Opuntia ficus-indica* and *O. robusta*. **Arid Land Research and Management**, v.27, p.337-348, 2013.

SOUSA, T. P.; SOUSA NETO E. P. **Produção da palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill. e *Nopalea cocherilifera* SalmDyck) como alternativa de alimentação para criações no Semi-Árido.** In: Simpósio Brasileiro de Captação e Manejo de Água de Chuva, 8, 2012. Campina Grande. 2012a.

SOUSA, R. M. S.; SERRA, I. M. R. S.; MELO, T. A. Efeito de óleos essenciais como alternativa no controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, em pimenta. **Summa Phytopathol.**, Botucatu, v. 38, n. 1, p. 42-47, 2012b.

SOUZA, A.E.F., NASCIMENTO, L.C., ARAÚJO, E., LOPES, E.B. & SOUTO, F.M. Ocorrência e identificação dos agentes etiológicos de doenças em palma forrageira (*Opuntia ficus-indica* Mill.) no semiárido paraibano. **Biotemas**, v. 23, p.11–20.2010.

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

SUMMERELL, B. A.; SALLEH, B.; LESLIE, J. F. A utilitarian approach to *Fusarium* identification. **Plant Disease** 87: 117-128. 2003.

SWART, W.J.; KRIEL, W.M. Pathogens associated with necrosis of cactus pear cladodes in South Africa. **Plant Dis.**, v. 86, pág. 693–693. 2002.

SWART, W. J. Strategies for the management of cactus pear diseases: A global perspective. **Acta Hort.**, v. 811, pág. 207–216. 2009.

TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution*:30 2725-2729. 2013.

TANAKA, M. A. S. Técnicas auxiliares em laboratório de patologia de sementes, In: SDAVE, J.; WETZEL, M. M. V. S. (Ed.). **Patologia de sementes.**, p. 313-329. 1987.

TEIXEIRA, H.; VIEIRA, M. G. G. C.; MACHADO, J. C. Marcadores morfofisiológicos de *Acremonium strictum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29 n.4 July/Aug. 2004.

TYRREL, G. I. Species identification of enterococci via intergenic ribosomal PRC. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.33, p. 1108-1113. 1997.

UGULINO, A. L. N. INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL DE *Macrophomina phaseolina* (Tassi.). Goid POR ÓLEOS VEGETAIS. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Campina Grande, Pombal – PB. 2017.

VELOSO, R.A.; CASTRO, H.G. de; CARDOSO, D.P.; SANTOS, G.R. dos; BARBOSA, L.C.de A.; SILVA, C.P. da. Composição e fungitoxicidade do óleo essencial de capim citronela em função da adubação orgânica. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, p.1707-1713, 2012.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B. C. A.; SOUZA, F. R. INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO IN VITRO DE FITOPATÓGENOS SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE EXTRATOS DE

PLANTAS MEDICINAIS. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.78, n.1, p.89-95, jan./mar., 2011.

WALKER, C.; MACIEL, C. G.; MILANESI, P. M.; MUNIZ, M. F. B.; MEZZOMO, R.; POLLET, C. S. Morphological, molecular and pathogenicity characterization of *Fusarium acuminatum* and *Fusarium verticillioides* to cordia americana seeds. **Ciência Florestal**, Santa Maria, v. 26, n. 2, p. 463-473, abr.-jun., 2016.

WEIR, B.S.; JOHNSTON, P.R; DAMM, U. The *Colletotrichum gloeosporioides* species complex. **Studies in Mycology**, v.73, p.115–180, 2012.

WHITE, T.J.; BRUNS, T.; LEE, S.; TAYLOR, J. **Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics**. In: M.A. Innis, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky & T.J. White (eds.). PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic, San Diego, pp. 315-322, 1990.

ZAMBOLIM, L., JÚNIOR-JESUS, W.C., RODRIGUES, F.A. O Essencial da Fitopatologia. Epidemiologia de Doenças de Plantas. Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2014.

ZIMMERMANN, H.; GRANATA, G. Insect pests and diseases. In: NOBEL, P. S. (Ed.). **Cacti: biology and uses**. Berkeley, Los Angeles, London: University of California Press, p.235-254. 2002.

ANEXOS

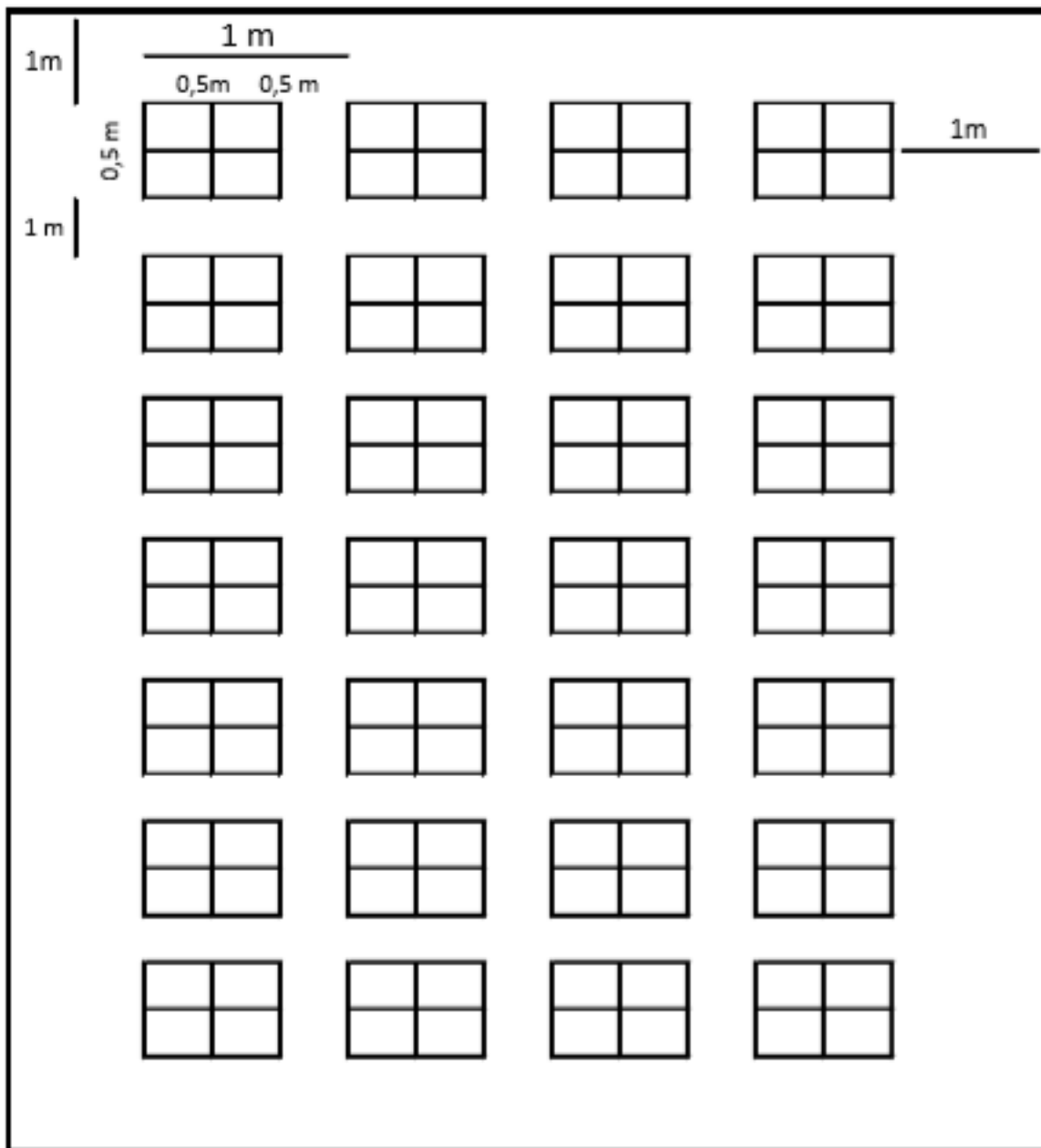


Figura 4. Croqui de instalação da palma forrageira gigante (*Opuntia ficus-indica*) em campo, na Fazenda Chã de Jardim, Areia-PB. Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), com 4 blocos, 7 tratamentos e 4 unidades experimentais (4x7x4).