# EXTRATOS E TINTURAS VEGETAIS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE *Corynespora cassiicola* E INDUÇÃO DE FITOALEXINAS EM SOJA

## EXTRACTS AND DYES VEGETABLE ON MYCELIAL GROWTH OF *Corynespora cassiicola* AND INDUCTION OF PHYTOALEXINS IN SOYBEAN

JULIANA SANTOS BATISTA **OLIVEIRA**[1]*, VALDECIR **BIONDO**[2], KÁTIA REGINA FREITAS SCHWAN-**ESTRADA**[3]

**1.** Aluna do curso de pós-graduação em agronomia da Universidade Estadual de Maringá-UEM; **2.** Aluno de pós-graduação em Física da Universidade Estadual de Maringá-UEM; **3.** Professora Doutora do curso de Agronomia na Universidade Estadual de Maringá- UEM.

*Av. Colombo, 5.790, Bloco T33, Sala 03, Jardim Universitário, Maringá, Paraná, CEP 87020-900. Brasil. julianaglomer@hotmail.com

**Recebido** em 20/11/2013. **Aceito** para publicação em 20/02/2014

## RESUMO

**O uso na agricultura de produtos a base de plantas medicinais tem demonstrado potencial antimicrobiano e indutor de mecanismos de defesa vegetal. Este estudo teve como objetivo avaliar ar o efeito de extratos de *Aloe vera* (Babosa) e *Euphorbia tirucalli* L (Avelós) sobre o crescimento micelial de *Corynespora cassiicola;* tinturas de *Ocimum basilicum* (Alfavaca), *Leonurus sibiricus* (Rubim), *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) e *Achillea millefolium* (Mil-folhas) e extrato bruto de *Eucalyptus citriodora* (Eucalipto) sobre a produção de fitoalexinas. Os extratos de Babosa e Avelós foram diluídos em meio BDA a 5, 10, 15, 20% e vertidos em placas de petri, que receberam discos de micélio do patógeno em estudo. Foi mensurada a área de crescimento (cm$^2$), a velocidade de crescimento. Para os ensaios de fitoalexina os cotilédones de soja foram cortados superficialmente na face abaxial e sobre o corte depositados os tratamentos de Alfavaca, Rubim, Alecrim e Mil-folhas nas doses 1,5, 5 e 10%. Após extração em água o teor de gliceolina foi determinado em espctrofotômetro. Os tratamentos inibiram significativamente o crescimento fúngico. O extrato de Babosa destacou-se chegando a inibir 100% o crescimento. O Avelós na maior dose reduziu em 45% a área fúngica. As tinturas testadas induziram aumento no acúmulo da fitoalexina, não havendo diferenças entre os tratamentos ou doses.**

**PALAVRAS-CHAVE:** Controle alternativo, plantas medicinais, indução de resistência.

## ABSTRACT

The use of agricultural products made from medicinal plants has demonstrated antimicrobial activity and inducing mechanisms defela plant. This study aimed to evaluate the effect of extracts of *Aloe vera* (Aloe) and *Euphorbia tirucalli* L (Aveloz) on mycelial growth of *Corynespora cassiicola*; dyes *Ocimum basilicum* (Basil), *Leonurus sibiricus* (Rubim), *Rosmarinus officinalis* (Rosemary) and *Achillea millefolium* (Yarrow) and crude extracts from *Eucalyptus citriodora* (Eucalyptus ) on the production of phytoalexins. The extracts of Aloe and Aveloz were diluted on PDA to 5, 10, 15, 20%, and poured into petri dishes that received the pathogen mycelial discs under study. Was measured growth area (cm$^2$), the growth rate. For tests of the phytoalexin soybean cotyledons were cut on the abaxial surface and deposited on the cut treatments Basil, Rubim, Rosemary and Yarrow at doses 1.5, 5 and 10%. After extraction in water content was determined gliceolin espctrofotômetro. The treatments significantly inhibited fungal growth. The extract of aloe stood out coming to inhibit 100 % growth. The aveloz the highest dose reduced by 45 % fungal area. The dyes tested induced increases in the accumulation of phytoalexin, no differences between treatments or doses.

**KEYWORDS:** Alternative control, medicinal plants, induced resistance.

## 1. INTRODUÇÃO

As doenças de plantas apresentam-se como um problema ao homem desde o surgimento do cultivo de alimentos, exigindo um enorme esforço no seu combate[1]. Procurando contornar os problemas gerados pelas medidas de controle de doenças no sistema de produção convencional, a agricultura agroecológica, propõe a adoção de medidas que preservem o meio e a saúde humana/animal[2,3].

O controle de doenças pelo uso de produtos alternativos é um dos enfoques da agricultura agroecológica, que inclui o controle biológico, a indução de resistência em plantas e o uso de produtos naturais com atividade antimicrobiana e/ou indutora de resistência[4].

Um grande número de trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais e aromáticas, obtidos a partir da flora nativa, têm indicado o potencial de controle de fitopatógenos, tanto pela ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a

germinação de esporos, quanto pela indução de compostos bioquímicos de defesa, indicando a presença de composto(s) com característica(s) de elicitor(es)[2,5]. Por exemplo, as fitoalexinas, que compostos antimicrobianos sintetizadas e acumulados nas plantas após estresses físicos, químicos ou biológicos, sendo capazes de reduzir ou impedir a atividade de agentes patogênicos, atuando de forma direta sobre o agressor e também causando a morte do tecido infectado[6].

Entre as espécies vegetais que tem sido estudadas quanto às propriedades químicas e antibióticas destacam-se *Aloe vera* (Babosa) e *Euphorbia tirucalli* (Avelós), a *Ocimum basilicum* (Alfavaca), o *Leonurus sibiricus* (Rubim), o *Rosmarinus officinalis* (Alecrim), a *Achillea millefolium* (Mil-folhas) e o *Eucalyptus citriodora* (Eucalipto) entre outras. Estas plantas têm sido testadas nas mais variadas formas, podendo-se citar extratos aquosos, etanólicos, decoctos, óleos essenciais, infusões, entre outras.

A *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller), conhecida popularmente como Babosa, é uma espécie de planta pertencente ao extenso gênero *Aloe sp*., sendo a de maior interesse por ser considerada a que apresenta maior atividade biológica[7,8] SINGH & SOOD, 2009). O Avelós (*Euphorbia tirucalli* L.) pertencente à família Euphorbiaceae, é considerada uma planta tóxica apesar do seu uso na medicina popular, possuindo látex corrosivo para a pele e as mucosas. O extrato da planta é composto por quantidades significativas de triterpenóides e diterpenóides[9], e as pesquisas voltadas à atividade agrícola demonstram atividades antimicrobianas e nematicidas[9, 10].

O alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) é um é um arbusto perene da família Labiatae, sendo uma das plantas medicinais e aromáticas mais conhecidas e utilizadas. Seus princípios ativos se baseiam na presença de uma quantidade significativa de substâncias, como os óleos essenciais (1 a 2%), na forma de alfa e beta-pineno, canfeno, mirceno e limoneno, entre outros. Também apresenta terpenóides, como o carnosol, e o ácido oleânico, e flavonóides, como a apigenina, a diosmetina, a diosmina, e a genkwanina, reportadas propriedades antimicrobianas[11, 12]. Os isoflavonóides presentes tem ação como fitoalexinas[13].

O Rubim, *Leonurus sibiricus*, é uma planta herbácea de ciclo anual ou bienal, pertencente à família Lamiaceae. As plantas desta família produzem terpenóides e substâncias fenólicas com efeitos alelopáticos[14]. Foram relatados efeitos alelopáticos na germinação de agrião e milho, bem como uma diminuição da matéria seca das plântulas germinadas tratadas com extrato bruto das folhas[15].

Mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) é uma pequena planta herbácea perene, aromática, e também utilizada com fins medicinais. Seu óleo essencial, bastante apreciado, apresenta cor azul e inúmeras propriedades farmacológicas. Dentre seus componentes destacam-se as lactonas sesquiterpênicas, o mentol, a cânfora, o eugenol e o camazuleno[16].

Outra planta medicinal de grande importância, apresentando propriedades bactericidas e antiparasitárias, é a *Ocimum basilicum* L. (Alfavaca), é uma espécie da família Lamiaceae, com atividade biológica devido à presença de taninos, flavonóides, saponinas e cânfora, e em seu óleo essencial de compostos como estragol, linalol, timol, cinelol e eugenol[17].

Deste modo, este trabalho teve por objetivo avaliar o feito de extratos de *Aloe vera* (Babosa) e *Euphorbia tirucali* (Avelós) sobre o crescimento micelial de *Corynespora cassiicola* e tinturas de *Ocimum basilicum* (alfavaca), *Leonurus sibiricus* (Rubim), *Rosmarinus officinalis* (Alecrim), *Achillea millefolium* (Mil-folhas) e do extrato bruto de *Eucalyptus citriodora* (Eucalipto) na indução de fitoalexinas em cotilédones de soja.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Preparo dos extratos

Ramos e caules de *Euphorbia tirucalli* L. e folhas de *Aloe vera* foram coletadas em área de ocorrência natural no município de Maringá –PR. Os galhos de *E. tirucalli* após lavados em água destilada e secos, em seguida pesados e tritutados em liquidificador com alcool de cereais na proporção 50% p/v. As folhas de *A. vera* após limpeza, tiveram toda sua mucilagem extraída com auxílio de uma espátula, que em seguida foi pesada e batida em liquidificador com alcool de cereais na proporção 50%. Ambos os extratos pernamecerão em repouso por 24h em frasco escuro a 25ºC. Após filtragem em papel de filtro, os materiais obtidos foram utilizado nos bioensaios.

As tinturas de *Ocimum basilicum* (Alfavaca), *Leonurus sibiricus* (Rubim), *Rosmarinus officinalis* (Alecrim) e *Achillea millefolium* (Mil-folhas) e extrato bruto de *Eucalyptus citriodora* (Eucalipto) foram preparadas apartir de folhas e ramos coletados em área de ocorrência natural no município de Maringá-PR, por trituração em manual em etanol comercial na proporção 1:1 (peso:volume), permancendo 72h em frasco escuro a 25ºC. Após filtragem em papel de filtro, os materiais obtidos foram utilizados nos bioensaios. No material de Eucalipto foi feita a evaporação do solvente em rotaevaporador, sobrando ao fim uma pasta que foi utilizada nos experimentos.

### Bioensaios

### Controle *in vitro* de *Corynespora cassiicola*

Para a verificação do potencial antifúngico de *E. tirucalli e A. vera* os extratos obtidos foram diluídos em meio BDA (batata-dextrose-ágar) fundente nas concentrações 5, 10, 15, 20 e 25% e vertidos em placas de petri

20ml de meio contendo os tratamentos. Placas contendo apenas meio BDA foram utilizadas como controles. Cada tratamento foi composto por quatro repetições, sendo cada repetição representada por uma placa.

Discos de micélio de colônias de *Corynespora cassiicola,* isolados de plantas de soja, com vinte dias de crescimento em meio BDA, foram transferidos para o centro das placas contendo os tratamentos e mantidos em BOD 25ºC e fotoperíodo de 12 horas de luz/escuro . A cada 24 horas foram mensurados os diâmetros ortogonais das colônias e calculada a área de crescimento ($cm^2$).

Com os valores de observação diária foi calculado o índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) conforme fórmula a descrita[19] IVCM= Σ (D-Da)/N, sendo: D= diâmetro médio atual da colônia, Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior N= número de dias após a inoculação.

Os valores de de crescimento observados nas placas controle foram considerandos o crescimento máximo, e com base nisto calculado os valores de inibição provocado pelos tratamentos. Os resultados foram submetidos à análise de variância e comparados pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$).

### Indução de gliceolina

Sementes de soja *Glycine max* cultivar VMAX-NK 7059 após desisfestação superficial com hipoclorito de sódio 1% por 5 minutos foram semeadas em areia esterilizada e mantidas em casa de vegetação. Dez dias após a germinação, os cotilédones das plântulas foram removidos e lavados com água destilada. Na face abaxial dos cotilédones, foi feito um corte superficial de aproximadamente de 1 mm de espessura e 6 mm de diâmetro, e sobre esse corte depositados 40µL das tinturas de Alfavaca, Rubim, Alecrim e Mil-folhas duluídas nas concentrações 5, 10 e 15%, cotilédones tratados com água destilada esterelizada foram utilizados como controle, sendo pesados e então colocados em placas de petri (cinco por placa) forradas com disco de papel de filtro umedecidos com água destilada. As placas tampadas e não-vedadas foram mantidas em BOD a 25ºC, no escuro. Após 20 horas, os cotiledones foram retirados das placas e colocados em tubos contendo 10mL de água destilada, que em seguida foram agitados em mesa agitadora por uma hora para a extração de gliceolina formada. A mensuração foi feita em espectrofotômetro a 285 nm e os resultados dados em unidades de absorbância por grama de peso fresco (ABS $gpf^{-1}$)[20]. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com 13 tratamentos com quatro repetições, sendo cada repetição representada por um conjunto de cinco cotiledones. Os resultados foram submetidos a análise de variância e posteriormente comparados pelo teste de Scott-Knott ($p<0,05$), e análise de regressão.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No teste de cresimento micelial, todos os tratamentos provocaram reduções significativas nas variáveis avaliadas de *C. cassiicola* quando comparados ao grupo controle pelo teste de Scott-Knott a 5%. Todas as doses de ambas as espécies testadas inibiram a área e a velocidade de crescimento. A figura 1 mostra as áreas médias de crescimento ao longo do tempo do patógeno na presença dos tratamentos, sendo evidente desde os estágios iniciais o efeito inibitório dos tratamentos.

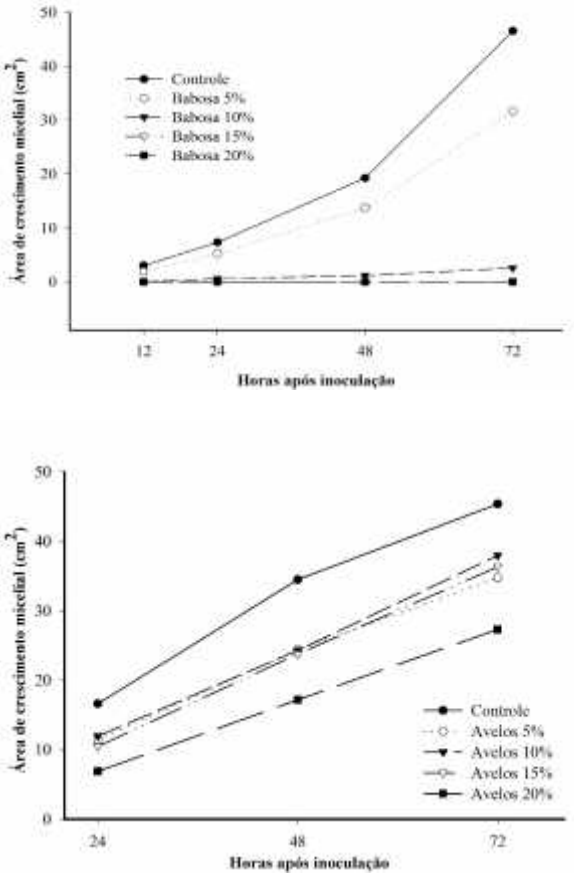


**Figura 1.** Área de crescimento ($cm^2$) de *Corynespora cassiicola* ao longo do tempo, na presença de extratos de *Aloe vera e Euphorbia tirucalli*.

A análise das velocidades de crescimento revelou que todos as doses testadas de ambas as espécies vegetais atrasaram significativamente o crescimento do patógeno, chegando a valores 35% menores nas colônias tratadas com Avelós 20% (Tabela 1).

A análise desta variável para os tratamentos com Babosa mostrou-se ainda melhor, inibindo em até 100% a velocidade de crescimento, ou seja, não houve crescimento.

O extrato de Avelós provocou redução entre 18% e 45% (Tabela 1). Para os extratos de Babosa todos as

concentrações reduziram significativa o crescimento, sendo que a partir de 15% houve inibição total do crescimento do patógeno (Tabela 1). A análise de regressão para ambos os extratos demonstraram haver um efeito dose dependente, sendo para a Babosa o modelo de ajuste quadrático com $r^2$=0,97, para o Aveloz o comportamento apresentado foi cúbico com $r^2$=0,97 (Figura 2).

**Tabela 1**. Índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), inibição do índice de velocidade de crescimento micelial (IIVCM), inibição do crescimento micelial (ICM) de colônias de *Corynespora cassiicola* tratadas com extratos de Avelos e Babosa.

| | Avelós | | | Babosa | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Tratamento | IVCM | IIVCM | ICM | IVCM | IIVCM | ICM |
| Controle | 12,52 a* | - | - | 12,67 a | - | - |
| 5% | 9,8 b | 21,72 | 23,24 | 8,95 b | 29,36 | 24,1 |
| 10% | 10,71 c | 14,45 | 17,75 | 0,81 c | 93,6 | 93,57 |
| 15% | 10,76 c | 14,05 | 21,43 | 0 d | 100 | 100 |
| 20% | 8,7 d | 35,54 | 43,19 | 0 d | 100 | 100 |
| Cv% | 3,96 | | | 3,47 | | |

*Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott (p<0,05).

A análise desta variável para os tratamentos com Babosa mostrou-se ainda melhor, inibindo em até 100% a velocidade de crescimento, ou seja, não houve crescimento.

O extrato de Avelós provocou redução entre 18% e 45% (Tabela 1). Para os extratos de Babosa todos as concentrações reduziram significativa o crescimento, sendo que a partir de 15% houve inibição total do crescimento do patógeno (Tabela 1). A análise de regressão para ambos os extratos demonstraram haver um efeito dose dependente, sendo para a Babosa o modelo de ajuste quadrático com $r^2$=0,97, para o Aveloz o comportamento apresentado foi cúbico com $r^2$=0,97 (Figura 2).

Comparando os efeitos observados constata-se que os tratamentos com Babosa resultaram em maiores inibições em relação ao Avelós. A atividade antimicrobiana verificada para a Babosa pode ser atribuido ao gel mucilaginoso tem em sua composição muitos componentes potencialmente ativos como aminoácidos, açúcares, enzimas, vitaminas e minerais, os quais proporcionam propriedades importantes como penetração em tecidos, efeito antiinflamatório e propriedades antimicrobianas. A ação antibacteriana, antifúngica e antivirótica dá-se pela presença das antraquinonas como aloenina, barbaloína e isobarbaloína em sua composição química. Efeito também observado sobre *Enterococccus faecalis*[21].

A atividade fungicida observado para o extrato etanólico de *E. tirucalli* pode ser devido à presença de taninos, saponinas e flavonóides que já foram descritas para o vegetal. Assim como verificado neste estudo também foi constatado atividade antimicrobiana do extrato etanólico de avelós fresco sobre o crescimento de *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Citrobacter freundii* e *Serratia odorifera*[9].

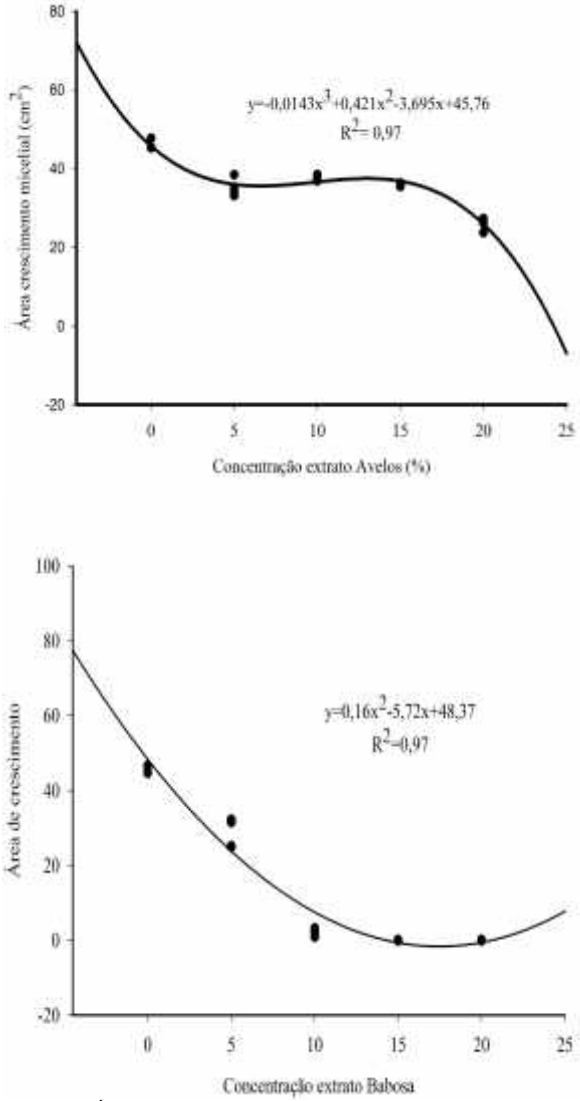


**Figura 2**. Área média de crescimento micelial de *Corynespora cassiicola* em função das diferentes concentrações de extrato aquoso de *Aloe vera, Euphorbia tirucalli*.

Nos testes de indução de fitoalexinas todos os tratamentos testados induziram o acúmulo de gliceolina. A figura 3 apresenta os valores de gliceolina, os tratamentos que maior induziram formação da fitoalexina foram a base de Rubin e Alecrim com indução média de 1,68 e 1,63 vezes maior que o controle respectivamente. A Alfavaca provocou um incremento de 1,49 vezes e Mil-folhas 1,25 vezes maior que a testemunha (0,78 ABS $gpf^{-1}$). Não houve efeito dose dependente. Para as tintutras de Alecrim foi verificada indução apenas nas concentrações mais baixas (5 e 1,5%), indicando possi-

velmente que a maior dose a concentração de princípios ativos exerceram exercendo efeito contrário. Nos cotilédones tratados com Mil-folhas houve indução apenas na dose 5% (1,15 ABS $gpf^{-1}$) os outros valores foram estatisticamente semelhante ao controle. Para a tintura de Rubin os valores de variaram entre 1,36 e 1,37, para Alfavaca os valores ficaram entre 1,25 e 1,36, Alecrim 0,99 e 1,31 e Mil-folhas 0,841 e 1,15 ABS $gpf^{-1}$. Não houve diferenças significativas entre as doses utilizadas assim como não foi observado para as diferentes tinturas.

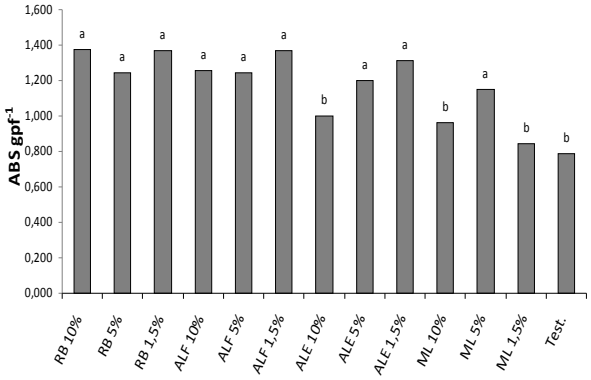


**Figura 3.** Médias de formação de fitoalexina em cotilédones de soja *Glycine max* cultivar VMAX-NK 7059, valores expresso em unidades de absorbância por grama de peso fresco.

Os extratos testados, além da ação elicitora observada neste estudo, também já foram descrtitas com atividade de controle com ação direta sobre patógenos. Sendo verificado inibição de até 100% sobre o crescimento micelial de *Glomerela cingulata* e *Colletothichum gloeosporioides* por extratos de Alecrim e Alfavaca[22].

Do mesmo modo foi demonstrado os efeitos antibióticos de mil-folhas e alecrim sobre *Staphylococcus aureus, Salmonella choleraesuis, Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, entre outros. Efeitos que podem ser relacionados, no caso do Alecrim, à presença de flavonoides, ácidos fenólicos (cafeico, clorogênico e rosmarinico), à presença de óleo essencial (canfor e cineole) e diterpenos (carnosol)[23]. Para mil-folhas a presença de linalol, estragol and eugenol, taninos and flavonóides justificam os resultados observados. A atividade antimicrobiana do extrato aquoso de Mil-folhas sobre a esporulação de *C. cassiicola,* controlando a doença em pepino tambem ja foi relatada[24].

A presença de alcalóides, taninos, glocosídeos, óleo essenciale resinas em plantas de Rubim vão de encontro aos resultados obtidos, indicando que estes componentes podem ser os responsávies pela indução de fitoalexinas observadas. O extrato bruto de Rubim ainda apresenta efeitos antibiócos sobre o crescimento de *Candida albicans, Staphylococus aureus e Pseudomonas seruginosa*[25]. Os compostos descritos para a espécie podem atuar de diretamente sobre o microorganismo e em vegetais ainda podem ativar seus mecanismos constituítivos de defesa.

Para os cotilédones tratados com o extrato de Eucalipto foi observado efeito dose dependente com padrão de respota linear ($r^2$=0,9), chegando a valores quase 6 vezes maiores na maior dose, em comparação ao controle (Figura 4). Assim como observado neste estudo foi verificado que extrato aquoso bruto de Eucalipto (*Eucalyptus citriodora)* sobre a produção de ftoalexinas e na ação antifúngica contra *C. lagenarium*[20]. Assim como observado efeito inibitório sobre o crescimento de *Helminthosporium* sp *in vitro* como *in vivo*[26]. Indicando o potencial desta espécie para o controle de patógenos e na indução de compostos de defesa vegetal.

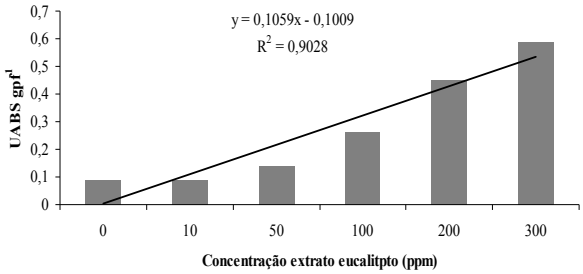


**Figura 4.** Médias de formação de fitoalexina em cotilédones de soja *Glycine max* cultivar VMAX-NK 7059, tratadas com extrato de *Eucalyptus citriodoa,* valores expresso em unidades de absorbância por grama de peso fresco.

Os efeitos elicitores observados pelos extratos testados indicam seu grande potencial no uso como agentes de controle de doenças em plantas uma vez que, as fitoalexinas são fungicidas e/ou antibióticos potentes, amplamente associados com a resistência vertical ou imunidade. Em vegetais que apresentam este incremento na produção de fitoalexinas ocorre o impedimento da colonização do tecido do hospedeiro[26].

## 4. CONCLUSÕES

Com A inibição total ou parcial do crescimento micelial de *Corynespora cassiciola* pelos extratos de *Aloe vera e Euphorbia tirucalli* evidenciou a existência de compostos biologicamente ativos, com efeitos fungitóxico, indicando uma possível aplicação potencial no controle alternativo deste patógeno.

Tinturas de *Ocimum basilicum* (alfavaca), *Leonurus sibiricus* (Rubim), *Rosmarinus officinalis* (Alecrim), *Achillea millefolium* (Mil-folhas), e o extrato bruto de *Eucalyptus citriodora* (Eucalipto), promoveram maior acúmulo de gliceolina nos cotilédones tratados, indicando potencial destes vegetais na indução de resistência em soja.

## REFERÊNCIAS

[01] Sobrinho AC, Ferreira PRO, Cavalcanti LS Indutores abióticos. In: Cavalcanti LS, Di Piero RM, Cia P,

Pascholati SF, Resende MLV, Romeiro RS(Eds). Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba, Fealqp, 2005; 51-80.
[02] Stangarlin JR, Schwan-Estrada KRF, Cruz MES, Nozaki MH Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. Biotec. Ciên. & Desen. 1999; 2(11):16-21.
[03] Valarini PJ, Resende FV. Sustentabilidade do manejo orgânico e convencional na produção de hortaliças do Distrito Federal. Embrapa hortaliças (Circular Técnica, 49), 2007.
[04] Schwan-Estrada KRF, Stangarlin JR, Cruz MES. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. Fitopatol. Bras. 2003; 8:54-6.
[05] Hamman J. Composition and Applications of *Aloe vera* Leaf Gel**‖. Molec.** 2008; 13:1599-1616.
[06] Singh B, Sood N. Significance of explant preparation and sizing in Aloe vera L. A highly efficient method for in vitro multiple shoot induction. 2009; Sci. Hortic.
[07] Furstenberger G, Hecker E. On the active principles of the *Euphorbiaceae,* XII. Highly unsaturated irritant diterpene esters from *Euphorbia tirucalli* originating from Madagascar. Jour. of Nat. Prod. 1986.
[08] Vale VV, Orlanda JFF. Atividade antimicrobiana do extrato bruto etanólico das partes aéreas de *Euphorbia tirucalli* Linneau (Euphorbiaceae). Scien. Ple. 2011; 7(4).
[09] Devi LS, Gupta P. Evaluation of some plant latices against *Heterodera cajani* on cowpea (*Vigna sinensis*). Nat. Acad. Scien. Lett. 2000; 23(5/6):65-7.
[10] Duarte MCT. Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. MultiCiência, Construindo a história dos produtos naturais, 2006.
[11] Porte A, Godoy RL de O. Alecrim (*Rosmarinus officinalis* l.): propriedades antimicrobiana e química do óleo essencial. CEPPA, 2001; 19(2):93-100.
[12] Costa AF. Farmacognosia. 6º edição, Fundação Calouste Gublenkian, Lisboa-Portugal. 2002.
[13] Larcher W. Ecofisiologia vegetal, Sttuttgard: Eugen Ulmer, 2000; 315.
[14] Bonatto IC, Wachowicz CM, Parolin LC. Ação alelopática de extratos de Rubim (*Leonurus sibiricus*) na germinação e crescimento inicial de agrião, feijão e milho. Anais do IX Congresso de Ecologia do Brasil, São Lourenço-MG, 2009.
[15] Chandler RF, Hooper SN, Harvey MJ. Ethnobotany and phytochemistry of yarrow, *Achillea millefolium*, Compositae. Econ. Bot., 1982; 36:203-23.
[16] Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002; 512.
[17] Pascholati SF, Leite B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: Bergamin Filho A, Kimati H, Amorin L. (Org.). Manual de fitopatologia: princípios e conceitos. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995; 1:417-53.
[18] Dias MD, Pozza EA, De Abreu MS, Miranda EO. Eefeito Da Temperatura No Crescimento Micelial, Produção e Germinação de conídios de *Colletotrichum spp.* Isolados de *Coffea arabica*. Ciênc. agrotec. 2005; 29(3):545-52.
[19] Bonaldo SM, Schwan-Estrada KRF, Stangarlin JR, Tessmann DJ, Scapim CA. Fungitoxicidade, Atividade Elicitora de Fitoalexinas e Proteção de Pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo Extrato Aquoso de *Eucalyptus citriodora*. Rev. Fitopatol. bras. 2004; 29(2).
[20] Semenoffa TADV, Ferreirab WRS, Semenoff-Segundoc A, Biasolie ER. Efetividade in vitro de *Aloe vera* in natura, gel de clorexidina a 0,12% e gel de clorexidina a 2% sobre Enterococccus faecalis. Rev. odonto ciênc. 2008; 23(3):283-6.
[21] Rozwalka LC, Lima MLRZC, Mio LLM. Extratos, decoctos e óleos essenciais de plantas medicinais e aromáticas na inibição de *Glomerella cingulata* e *Colletotrichum gloeosporioides* de frutos de goiaba. Ciên. Rur. 2008; 38(2):31-6.
[22] Nascimento GGF, Locatelli J, Freitas PC, Silva GL. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemmicals on antibiotic resistant bacteria. Braz. Jour. of Microb. 2000; 31:247-56.
[23] Carlos MM, Schwan-Estrada KRF, Itako AT, Bonaldo SM, Mesquini RM, Carvalho JB, Stangarlin JR. Efeito de extrato bruto e óleo essencial de *Achillea millefolium* em desenvolvimento in vitro de *Corynespora cassiicola* e proteção de pepino à mancha de corinespora. Arquivos do Instituto Biológico (Impresso), 2010; 77:309-16.
[24] Wadt NSY, Ohara MT, Sakuda-Kaneko TM, Bacchi EM. Atividade antimicrobiana de *Leonorus sibiricus* L. Rev. bras. farmacogn. 1996; 5(2):167-74.
[25] Rodrigues E, Schwan-Estrada KRF, Stangarlin JR, Cruz MES, Fiori-Tutida AC G. Avaliação Da Atividade Antifúngica De Extratos De Gengibre E Eucalipto *in vitro E* Em Fibras De Bananeira Infectadas Com *Helminthosporium* sp. Rev. Acta Sci. Agron. 2006; 28(1):123-7.
[26] MATIELLO, R. R.; 1 BARBIERI, R. L.; CARVALHO, F. I. F. Resistência das plantas a moléstias fúngicas. Ciên. Rur. 1997; 27(1):161-8.