

## ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE VEGETAIS SOBRE DESENVOLVIMENTO DE *Macrophomina phaseolina* E INFLUENCIA DE MÉTODOS DE ESTERILIZAÇÃO

Eloisa Lorenzetti<sup>1\*</sup>; Anderson Luis Heling<sup>1</sup>; Jeferson Carvalho<sup>1</sup>; Vanessa de Oliveira Faria<sup>1</sup>; Juliana Yuriko Habitzreuter Fujimoto<sup>1</sup>; José Renato Stangarlin<sup>2</sup>; Odair José Kuhn<sup>2</sup>

SAP 16193 Data envio: 03/02/2017 Data do aceite: 18/07/2017  
Sci. Agrar. Parana., Marechal Cândido Rondon, v. 17, n. 1, jan./mar., p. 112-118, 2018

**RESUMO** - Com o intuito de buscar novas medidas de proteção de plantas contra doenças, a agricultura alternativa através do uso de plantas medicinais vem sendo muito estudada. O estudo teve como objetivo avaliar o efeito do extrato de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*), canela (*Cinnamomum zeylanicum*), alho (*Allium sativum*) e guaco (*Mikania glomerata*), submetido a diferentes métodos de esterilização (banho-maria a 65°C por 1 h, banho-maria a 85°C por 1 h, autoclave a 110°C por 20 min e autoclave a 120°C por 20 min), no crescimento micelial da *Macrophomina phaseolina* causador da podridão carvão em diversas culturas. Foi encontrada a área abaixo da curva de crescimento micelial para cada forma de esterilização nos extratos utilizados. Os extratos de alecrim, alho e cravo-da-índia possuem potencial antifúngico para o patógeno *M. phaseolina* verificado para o método de esterilização: autoclavagem a 120 °C por 20 minutos, banho maria a 65 °C por 1 h, banho maria a 85 °C por 1 h, respectivamente.

**Palavras-chave:** controle alternativo, crescimento micelial, podridão carvão.

## ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PLANT EXTRACTS ON THE DEVELOPMENT OF *Macrophomina phaseolina* AND INFLUENCE OF STERILIZATION METHODS

**ABSTRACT** - In order to seek new measures to protect plants against diseases, alternative agriculture through the use of medicinal plants has been much studied. The objective of this study was to evaluate the effect of rosemary extract (*Rosmarinus officinalis*), clove (*Syzygium aromaticum*), cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*), garlic (*Allium sativum*) and guaco (*Mikania glomerata*), submitted to different sterilization (water bath at 65°C for 1 h, water bath at 85°C for 1 h, autoclave at 110°C for 20 min and autoclave at 120°C for 20 min), in the mycelial growth of *Macrophomina phaseolina* causing the rotting of charcoal in several cultures. The area below the mycelial growth curve was found for each form of sterilization in the extracts used. The extracts of rosemary, garlic and clove have antifungal potential for the pathogen *M. phaseolina* verified for the sterilization method: autoclaving at 120 °C for 20 minutes, water bath at 65 °C for 1 h, water bath at 85 °C for 1 h, respectively.

**Key words:** alternative control, mycelial growth, coal rot.

### INTRODUÇÃO

*Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid (1947) é o agente causal da podridão carvão, podridão cinzenta da haste ou mancha carvão. É um patógeno polífago, que causa danos em diversas culturas de importância agrícola, como por exemplo algodoeiro, feijoeiro, milho, soja, sorgo, dentre outras centenas de plantas. Este patógeno é favorecido por temperaturas elevadas (acima de 26 °C) e climas secos. (ALMEIDA et al., 2014).

Em alguns casos, o patógeno pode entrar na propriedade através de sementes infectadas e manifestar os sintomas da doença. Os sintomas para a maioria das culturas, iniciam-se com lesões irregulares na haste da planta, ligeiramente deprimidas e escuras, estas lesões adquirem coloração acinzentada, podendo ocorrer clorose, murcha e morte de ramos e/ou de toda a planta. Em ataques severos, observa-se em lesões velhas a presença de numerosos pontos

negros, formados por picnídios e escleródios do patógeno (BIANCHINI et al., 2005).

Como métodos de controle, a rotação de culturas é uma prática duvidosa devido à ação polífaga do fungo. Portanto, a forma mais eficiente seria utilizar cultivares resistentes, porém, não há no mercado cultivares resistentes a esse fungo (MENGISTU et al., 2011), nem controle químico disponível (HENNING, 2009). Assim, uma das alternativas baratas e menos agressiva ao meio ambiente e a saúde dos homens e dos animais, seria a utilização de métodos de controle alternativos (LOPES et al., 2004)

O uso de métodos alternativos no controle de pragas e doenças causam menor impacto na biodiversidade e gerarem menores desequilíbrios biológicos, por interferirem pouco nas populações não-alvo, além de agregar valor ao produto (LOPES et al., 2004), uma vez que as pessoas estão

<sup>1</sup>Doutorando em Agronomia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Rua Pernambuco, 1777, Caixa Postal 91, CEP 85960-000, Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. E-mail: [eloisa-lorenzetti@hotmail.com](mailto:eloisa-lorenzetti@hotmail.com); [andersonheling@gmail.com](mailto:andersonheling@gmail.com); [jefersoncarvalho@outlook.pt](mailto:jefersoncarvalho@outlook.pt); [julianafujimoto@outlook.com](mailto:julianafujimoto@outlook.com), [wanessa\\_olfr@hotmail.com](mailto:wanessa_olfr@hotmail.com). \*Autor para correspondência.

<sup>2</sup>Docente, Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Rua Pernambuco, 1777, Caixa Postal 91, CEP 85960-000, Marechal Cândido Rondon, Paraná, Brasil. E-mail: [jose.stangarlin@unioeste.br](mailto:jose.stangarlin@unioeste.br); [ojkuhn@gmail.com](mailto:ojkuhn@gmail.com).

procurando alimentação mais saudável (MELO, 2004), sem a presença de agroquímicos (LOPES et al., 2004).

Algumas plantas são capazes de produzir grande quantidade de substâncias biologicamente ativas, as quais possuem influência sobre a alteração metabólica de um determinado organismo. Essas substâncias podem, do ponto de vista fitossanitário: ter atividade antimicrobiana, com inibição do crescimento micelial, da multiplicação das bactérias ou outros fitopatógenos ou da germinação de esporos; atividade de induzir a resistência, uma vez que possuem moléculas bioativas que induzem ou ativam mecanismos de defesa da planta; e também os chamados bioestimulantes do crescimento (STADNIK; TALAMINI, 2004).

Neste contexto muitos trabalhos vêm sendo realizados utilizando extratos de diversas plantas na busca de uma forma alternativa para o controle de fitopatógenos ou como uma maneira de potencializar a resistência das plantas ao ataque de patógenos. Entre essas plantas pode-se citar o alecrim, guaco, alho, cravo-da-índia e a canela.

O alecrim, planta nativa do mediterrâneo (MAY et al., 2010) é uma das plantas medicinais mais conhecidas e utilizadas (AFONSO et al., 2008). Entre seus princípios ativos temos a presença de substâncias, como os óleos essenciais na forma de alfa e beta-pineno, limoneno, canfeno, mirceno, entre outros e possui atividade antimicrobiana conhecida (GACHKAR et al., 2007; AFONSO et al., 2008). O guaco possui potencial antifúngico já relatado em inúmeros trabalhos (CARVALHO et al., 2012), e entre seus princípios ativos tem-se a presença de substâncias, como os óleos essenciais na forma de alfa e beta-pineno, limoneno, canfeno, mirceno, entre outros, com atividade antimicrobiana comprovada (CZELUSNIAK et al., 2012).

Com resultados promissores no controle de fitopatógenos, o alho é uma planta herbácea, caracterizada por um bulbo (cabeça) dividido em dentes (bulbilhos), que possui efeitos tóxicos os quais inativam os micro-organismos (HEINZMANN, 2001). A maior concentração de fitoquímicos estão presentes nos bulbilhos (CUTLER; WILSON, 2004). Segundo Ranasinghe et al. (2002), o cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum*) contém eugenol apresentando atividade fungicida (DELESPAUL et al., 2000). A canela também apresenta propriedades fungitóxicas. De acordo com Ranasinghe et al. (2002), a casca de canela contém o cinamaldeído como constituinte antimicrobiano.

Além de se obter os princípios ativos das plantas medicinais através do preparo de extrato, deve-se salientar a importância de se manter estes princípios viáveis para a aplicação, para que assim possam desempenhar o seu papel. Deste modo o método de esterilização deve ser adequado de modo que possa manter a viabilidade destes. Diante do exposto, objetivou-se com o presente trabalho avaliar o efeito dos extratos de alecrim, guaco, alho, canela e cravo-da-índia, submetidos a diferentes métodos de esterilização, no crescimento micelial da *Macrophomina phaseolina*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Obteve-se o isolado de *M. phaseolina* a partir de raízes e caules de plantas de soja infectadas naturalmente

com a doença, coletadas no município de Palotina (PR). Cultivou-se este em placas de Petri com meio composto por batata, dextrose, ágar (BDA), conservando o fungo neste meio para posterior utilização. Foram utilizados os extratos de alecrim (*R. officinalis*) e guaco (*M. glomerata*) obtidos a partir de folhas frescas coletadas no início da manhã em horta orgânica, alho (*Allium sativum*) obtido a partir de bulbilhos frescos, e o pó obtido pela trituração em liquidificador dos botões florais secos do cravo-da-índia (*S. aromaticum*) e da casca seca da canela (*C. verum*).

Para a obtenção dos extratos, as amostras dos vegetais utilizados foram trituradas com água destilada em liquidificador por 2 minutos, na proporção de 50 g da amostra para 450 mL de água destilada. Após, filtrou-se os extratos em peneira de controle granulométrico de 48 mesh e o bagaço retido nessa peneira foi prensado em pano e juntado ao extrato filtrado para melhor aproveitamento do mesmo. Os extratos aquosos obtidos na filtração com a peneira de 48 mesh foram novamente filtrados em peneira de 200 mesh, sendo o bagacilho retido na peneira descartado e os extratos filtrados finais foram coletado. Este procedimento foi adotado para a produção dos cinco extratos.

Estes extratos foram submetidos a diferentes métodos de esterilização, sendo estes, banho-maria a 65 °C por 1 h, banho-maria a 85 °C por 1 h, autoclavagem a 110 °C por 20 min e autoclavagem a 120 °C por 20 min. Após o processo de esterilização os extratos foram incorporados ao meio BDA na concentração de 20% (4:1, v:v), misturando-se para que fique homogêneo. Estes meios, contendo os extratos vegetais foram vertidos em placas de Petri com 90 mm de diâmetro, após solidificação do meio transferiu-se no centro das placas um disco micelial de 7 mm de diâmetro de *M. phaseolina*. Estas placas foram armazenadas em estufa a 30°C no escuro.

Para cada extrato, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC), contendo cinco tratamentos com oito repetições cada. Os tratamentos empregados foram os quatro métodos de esterilização dos extratos vegetais mais uma testemunha, a qual continha apenas o meio BDA, sem adição de extrato vegetal. Avaliou-se o crescimento micelial de *M. phaseolina* 24 e 48 h de incubação. Estas avaliações foram realizadas com auxílio de uma régua graduada em milímetros, sendo realizadas pelo método das medidas diametralmente opostas. Com estes valores calculou-se a área da colônia e a partir desta variável calculou-se a área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM).

A análise estatística foi realizada com o auxílio do software sisvar versão 5.3 (FERREIRA, 2011). Os resultados foram submetidos a análise de variância e posteriormente submetidas ao teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o extrato de alecrim, os métodos de esterilização em banho-maria a 65 °C e a 85 °C, assim como a autoclavagem a 120 °C não foram eficientes na preservação dos compostos antimicrobianos presentes no extrato ou não foram capazes de liberar compostos antimicrobianos já que não diferiram da testemunha. Somente a autoclavagem a

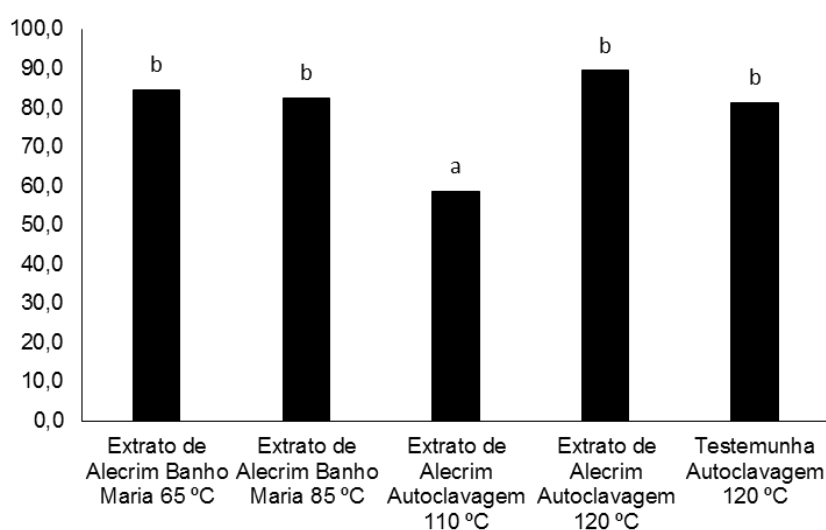
110 °C por 20 min reduziu a AACCM em 27,69% apresentando redução significativa e diferindo estatisticamente da testemunha (Figura 1).

Esses resultados sustentam a hipótese de que o alecrim possui ação antimicrobiana e isso pode ser devido a presença de compostos antifúngicos presentes em suas folhas como por exemplo o cineol, pineno, borneol e cânfora os quais possuem atividade antimicrobiana conhecida (GACHKAR et al., 2007). A ação dos compostos fungicidas presente em algumas plantas é ainda influenciada pela termoestabilidade desses compostos, a qual varia em função da espécie (BALBI-PEÑA et al., 2006).

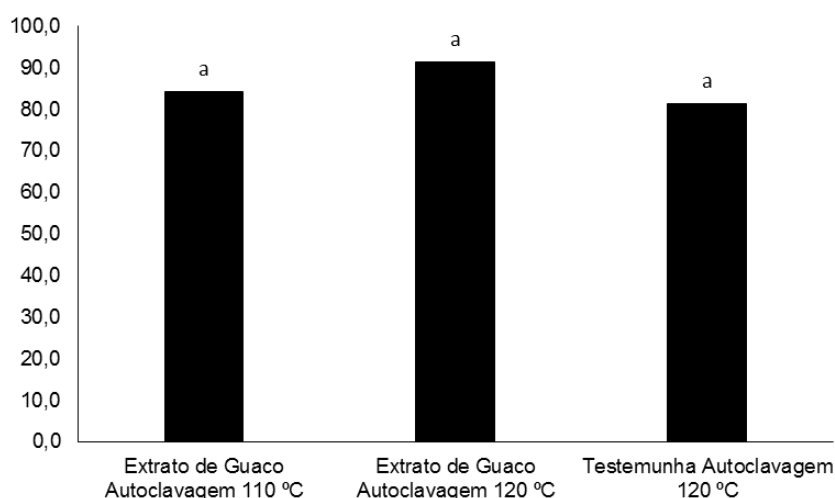
A termoestabilidade do extrato de alecrim provavelmente se apresenta na faixa de 110 °C, pois este foi o ponto em que a temperatura ativou o princípio ativo responsável para a redução do desenvolvimento micelial de

*M. phaseolina* (BALBI-PEÑA et al., 2006), além disso os resultados demonstram que quando se eleva a temperatura o extrato torna-se ineficaz, possivelmente por ocorrer a degradação de princípios ativos do extrato (VENTUROSOSO et al., 2010).

Para o extrato de guaco observa-se que não ocorreu diferença significativa entre os tratamentos quando comparado com a testemunha (Figura 2), porém ficou evidente que para se obter um extrato estéril é essencial utilizar o método adequado para o extrato que se trabalha, o que foi observado para o extrato de guaco que quando utilizado banho maria ocorreu a contaminação do meio de cultura pois, não ocorreu a correta esterilização, impedindo a avaliação destes tratamentos, assim não evidenciando a termosensibilidade dos princípios ativos do guaco.



**FIGURA 1.** Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *M. phaseolina* em extrato de alecrim submetido a diferentes métodos de esterilização.



**FIGURA 2.** Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *M. phaseolina* em extrato de guaco submetido a diferentes métodos de esterilização.

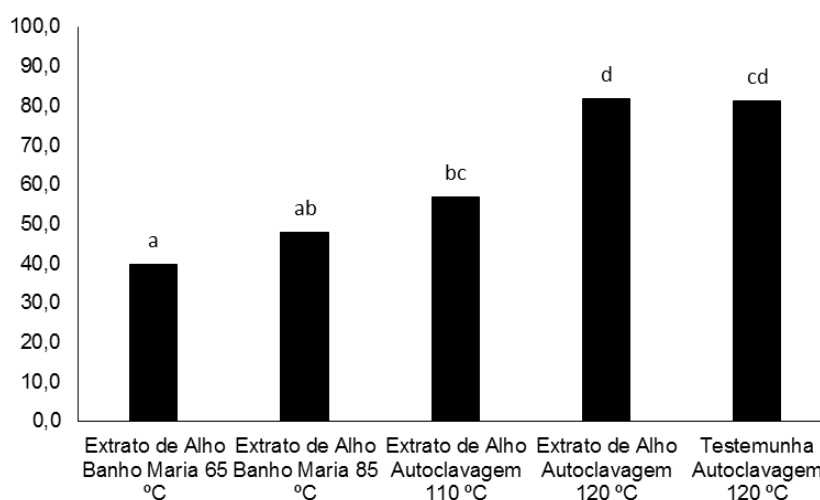
Murilho et al. (2009) utilizaram extrato de guaco sobre o crescimento de *Pleurotus ostreatus* e relataram que na presença do extrato de guaco extraído por infusão a temperatura de 140 °C, assim demonstrando que não é termosensível os princípios ativos presentes no guaco.

Os principais princípios ativos do guaco são óleo essencial, tanino, saponinas, resina substância amarga, cumarinas e guacosídeo. A cumarina é o ingrediente ativo mais estudado, pois tem grande importância no controle de gripe (ALMASSY Jr. et al., 2005). Os resultados obtidos para as autoclavagens no presente trabalho foram semelhantes ao resultado da testemunha para área abaixo da curva de progresso do crescimento micelial, sendo de 80,4375; 84,7500 e 89,4375 para testemunha, autoclavagem a 120 °C e autoclavagem a 110°C respectivamente. Os resultados não demonstram a termosensibilidade do extrato de guaco, como observado por Venturoso et al. (2010), quando utilizaram extratos de alho, canela e cravo-da-índia que no caso do alho demonstrou que ocorreu alteração no conteúdo de princípios ativos.

Cunico et al. (2013) observaram que o poder antifúngico do extrato de etanólicos de anestesia (*Ottonia*

*martiana* Miq.) foi afetado quando o mesmo foi autoclavado, causando pequena decomposição de compostos bioativos, redução de 42,6% do crescimento micelial de *Botrytis cinerea*, inferior ao observado quando o extrato foi esterilizado por filtro millipore, que apresentou inibição de 64,3% sobre o crescimento micelial. Mazaro et al. (2013) observaram que o extrato de *Calendula officinalis* L. quando submetido a extração com alta temperatura como a da infusão (100 °C) e da extração alcoólica (60 °C) reduziu o potencial antifúngico. Já a extração por maceração em liquidificador com água destilada fria inibiu em 100% o crescimento micelial de *Botrytis cinerea*. Demonstrando assim que o método de obtenção e esterilização do extrato é de grande importância para a condução do experimento.

O extrato de alho apresentou melhor eficiência na redução do desenvolvimento micelial com as menores temperaturas, assim o extrato foi esterilizado, não apresentando contaminação nas placas de Petri e o extrato apresentou degradação dos princípios ativos antifúngicos com o aumento da temperatura de esterilização (Figura 3).



**FIGURA 3.** Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *M. phaseolina* em extrato de alho submetido a diferentes métodos de esterilização.

No banho-maria as duas temperaturas foram eficientes na preservação dos compostos antifúngicos, apresentando reduções da AACCM em comparação com a testemunha, sendo estas reduções de 45,45% e 35,12% para o banho-maria a 65°C por 1 h e banho-maria 85 °C por 1 h, respectivamente. A esterilização do extrato de alho em autoclave a 110 °C por 20 min reduziu a AACCM em 19,97%, já a esterilização em autoclave a 120°C por 20 min elevou a AACCM em 7,07%, no entanto estas duas não diferiram da testemunha, demonstrando assim que estes dois métodos de esterilização do extrato de alho não são eficientes na preservação dos compostos antimicrobianos presentes em tal.

Fica evidente que o extrato de alho apresenta princípios ativos termo sensíveis, degradados com a

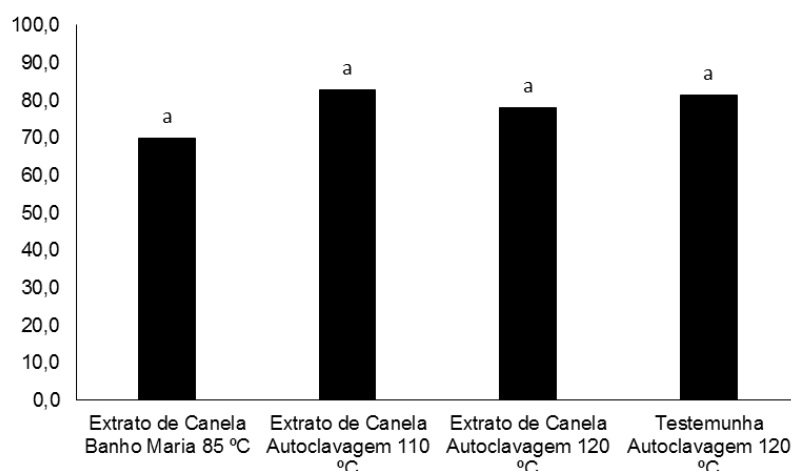
temperatura, que perdem a eficiência com o aumento da temperatura até ser totalmente degradado (VENTUROSO et al., 2010). Assim quando se utiliza extratos deve-se atentar para o método eficaz de esterilização do mesmo, pois o mesmo pode degradar os princípios ativos do extrato ou não apresentar esterilização ideal e acabar contaminando o meio de cultura, assim reduzindo a sua eficiência ou até inutilizando-o (FRANZENER et al., 2003).

O extrato de canela não foi eficiente no controle de *M. phaseolina*, sendo que todos os tratamentos não diferenciaram da testemunha (Figura 4), além disso o método de esterilização em banho maria a 65°C não foi eficiente e o meio contaminou, impedindo que se mensurasse a AACCM.

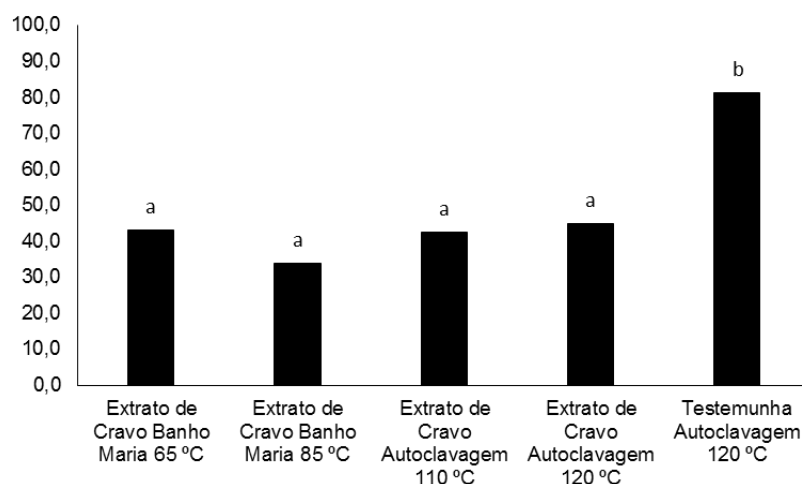
O extrato de canela não apresentou poder antifúngico contra *M. phaseolina*, muito provavelmente por este extrato não possuir efeito sobre este fungo. Porém, Venturoso (2009) obteve com o extrato aquoso de canela uma significativa atividade antifúngica sobre o crescimento micelial de *Penicillium* sp. e *Phomopsis* sp. Para *Colletotrichum* sp. e *Cercospora kikuchii* o extrato de canela reduziu significativamente o crescimento micelial nos primeiros 3 dias após a inoculação, porém não impediu

completamente o desenvolvimento do fungo, mas teve seu crescimento afetado quando comparado aos outros tratamentos testados.

Já o extrato de cravo-da-índia foi eficiente no controle de *M. phaseolina*, sendo que todos os tratamentos diferiram da testemunha (Figura 5), demonstrando que além de eficiente, o extrato de cravo-da-índia não possui termosensibilidade, chegando a reduzir em até 38% o crescimento micelial do fungo.



**FIGURA 4.** Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *M. phaseolina* em extrato de canela submetido a diferentes métodos de esterilização.



**FIGURA 5** - Área abaixo da curva de crescimento micelial (AACCM) de *M. phaseolina* em extrato de cravo-da-índia submetido a diferentes métodos de esterilização.

Com os resultados observados para o extrato de cravo-da-índia, o seu poder antifúngico deve ser desempenhado pelo princípio ativo eugenol (DUKE, 1985), que possui poder antifúngico. Como foi observado por Venturoso et al. (2010) o cravo-da-índia não possui termo sensibilidade, sendo que a temperatura não degrada os princípios ativos antifúngicos que o cravo-da-índia possui, assim como não necessita de uma temperatura exata para melhorar a eficiência do princípio ativo.

Como os resultados obtidos com todos os extratos observa-se que é de grande importância o método de

esterilização, para não reduzir a eficiência do extrato e também para que não ocorram contaminações.

## CONCLUSÕES

O método de esterilização mais eficiente muda de acordo com o extrato utilizado. Os extratos de alecrim, alho e cravo-da-índia demonstraram potencial de reduzir o desenvolvimento de *Macrophomina phaseolina*, enquanto os extratos de canela e guaco não possuem poder antifúngico contra este fungo.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- AFONSO, M.S.; SANT'ANA, L.S.; PINTO, J.P.A.N.; XIMENES, B. Atividade antioxidante e antimicrobiana do alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em filés de tilápia (*Oreochromis* ssp.) salgados secos durante o armazenamento congelado. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.2, p.12-17, 2008.
- ALMASSY Jr., A.A.; LOPES R.C.; ARMOND C.; SILVA F.; CASALI V.W.D. (Eds.). Monografia de plantas medicinais: guaco. Folhas de chá plantas medicinais na terapêutica humana. Viçosa: Ed. UFV, p.121-122, 2005.
- ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M.C.N.; FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; COSTA, J.M.; GAUDÊNCIO, C.A. *Macrophomina phaseolina* em soja. **Embrapa Soja**, Londrina, p.55, 2014.
- ALMEIDA, A.M.R. SEIXAS, C.D.S.; FARIAS, J.R.B.; OLIVEIRA, M.C.N.; FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; COSTA, J.M.; GAUDÊNCIO, C.A. *Macrophomina phaseolina* em soja. Londrina: Embrapa Soja, 2014. 55p.
- BALBI-PEÑA, M.I.; BECKER, A.; STANGARLIN, J.R.; FRANZENER, G.; LOPES, M.C.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Controle de *Alternaria solani* em tomateiro por extratos de *Curcuma longa* e curcumina - II. Avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.31, n.4, p.401-404, 2006.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Doenças do feijoeiro. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDI, J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4ª ed. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, v.2, cap.37, p.333-349, 2005.
- CARVALHO J.C.; VIECELLI C.A.; CALIXTO L.B.; BARBIERI L.D.; SILVA A.C. Germinação de esporos de *Puccinia polysora* por extratos aquosos de *Mikania glomerata*. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v.11, suplemento, p.38-42, 2012.
- CUNICO, M.M.; AUER, C.G.; CÔCCO, L.C.; YAMAMOTO, C.I.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G.; VIEIRA, G.; SANQUETTA, C.R. Avaliação do extrato etanólico de *Ottonia martiana* Miq. para o controle de duas doenças florestais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.3, p.464-469, 2012.
- CUTLER, R.R.; WILSON, P. Antibacterial activity of a new, stable, aqueous extract of allicin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **British Journal of Biomedical Science**, London, v.61, n.2, p.71-74, 2004.
- CZELUSNIAK, K.E.; BROCCO, A.; PEREIRA, D.F.; FREITAS, G.B.L. Farmacobotânica, fitoquímica e farmacologia do Guaco: revisão considerando *Mikania glomerata* Sprengel e *Mikania laevigata* Schulyz Bip. ex Baker. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.14, n.2, p.400-409, 2012.
- DELESPAUL, Q.; BILLERBECK, V.G.; ROQUES, C.G.; MICHEL, G.; MARQUIER-VINUALES, C.; BESSIERE, J.M. The antifungal activity of essential oils as determined by different screening methods. **Journal of Essential Oil Research**, Stanford, v.12, n.2, p.256-266, 2000.
- DUKE, J. A. **Handbook of medicinal herbs**. [S.l.]: Inc. Boca Raton, Fla., 1985. Disponível em: <[https://archive.org/stream/HandbookOfMedicinalHerbsByJamesA.Duke/HandbookOfMedicinalHerbs\\_djvu.txt](https://archive.org/stream/HandbookOfMedicinalHerbsByJamesA.Duke/HandbookOfMedicinalHerbs_djvu.txt)>. Acesso em: 5 mar. 2018.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência & Agrotecnologia**. Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- FRANZENER, G.; STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA K.R.F.; Cruz, M.E.S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. **Acta Scientiarum**, Maringá, v.25, n.2, p.503-507, 2003.
- GACHKAR, L.; YADEGARI, D.; REZAEI, M.B.; TAGHIZADEH, M.; ASTANEH, S.A.; RASOOLI, I. Chemical and biological characteristics of *Cuminumcyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. **Food Chemistry**, Tehran, v.102, n.3, p.898-904, 2007.
- HEINZMANN, B.M. Compostos com enxofre. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Ed.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFRGS, p.633-650, 2001.
- HENNING, A.A. Manejo de doenças da soja (*Glycine max* L. Merrill). **Informativo Abrates**, Londrina, v.19, n.3, p.9-12, 2009.
- LOPES, P.S.N.; LEITE, G.L.D.; SÁ, V.G.M.; SILAVA, A.C.; SOARES, M.A. Controle fitossanitário alternativo em comunidades de pequenos produtores rurais no Norte de Minas Gerais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA. **Anais...**Belo Horizonte, p.16-22, 2004.
- MAY, A. SUGUINO, E., MARTINS, A.N., BARATA, L.E.S., PINHEIRO, M.Q. Produção de biomassa e óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) em função da altura e intervalo entre cortes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.12, n.2, p.195-200, 2010.
- MAZARO, S.M.; FOGOLARI, H.; WAGNER JÚNIOR, A.; CITADIN, I.; SANTOS, I. Potencial de extratos à base de *Calendula officinalis* L. na indução da síntese de fitoalexinas e no efeito fungistático sobre *Botrytis cinerea*, *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.15, n.2, p.208-216, 2013.
- MELO, L.L.M.M. **Síntese enzimática dos ésteres de aroma butirato e valerato de citronelila por lipase de *Rhizopus* sp.** 2004. 107p. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos (UNICAMP-FEA). Campinas, 2004.
- MENGISTU, A.; ARELLI, P.A.; BOND, J.P.; SHANNON, G.J.; WRATHER, A.J.; RUPE, J.B.; CHEN, P.; LITTLE, C.R.; CANADAY, C.H.; NEWMAN, M.A.; PANTALONE, V.R. Evaluation of soybean genotypes for resistance to Charcoal rot. **Plant Management Network**. 2011. Disponível em: <<https://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2011/charcoal/>>. Acesso em: 27 mar. 2018.
- MURILHO, J.M.; FARIA, S.L.; ROSADO, F.R. Efeitos dos extratos de guaco (*Mikania glomerata* S.) e mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) sobre o crescimento de *Pleurotus ostreatus* "Florida" em cultura submersa. Iniciação Científica

- CESUMAR. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v.11, n.1, p.15-22, 2009.
- RANASINGHE, L.; JAYAWARDENA, B.; ABEYWICKRAMA, K. Fungicidal activity of essential oils of *Cinnamomum zeilanicum* (L.) and *Syzygium aromaticum* (L.) Merr et LM. Perry against crown rot anthracnose pathogens isolated from banana. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.35, n.3, p.208-211, 2002.
- STADNIK M.J.; TALAMINI V. **Manejo Ecológico de Doenças de Plantas**. CCA-UFSC: Florianópolis, cap.3, p.45-62-293, 2004.
- VENTUROSO, L.R. **Plant extracts in the control of the soybean phytopathogenic fungi**. 2009. 99p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) - Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2009.
- VENTUROSO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; PONTIM, B.C.A.; CONUS, L.A. Influência de diferentes metodologias de esterilização sobre a atividade antifúngica de extratos aquosos de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.12, n.4, p.499-505, 2010.