

**EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA
ANTRACNOSE DO FEIJOEIRO**

JOYCE MENDES ANDRADE PINTO

2009

JOYCE MENDES ANDRADE PINTO

**EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA
ANTRACNOSE DO FEIJOEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientadora

Profa. Dra. Elaine Aparecida de Souza

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2009

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Pinto, Joyce Mendes Andrade.

Extratos vegetais no controle da antracnose do feijoeiro
/ Joyce Mendes Andrade Pinto. – Lavras : UFLA, 2009.
57 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009.
Orientador: Elaine Aparecida de Souza.
Bibliografia.

1. Antracnose. 2. Extratos vegetais. 3. Colletotrichum
lindemuthianum. 4. Phaseolusa vulgaris. 5. . I. Universidade Federal de
Lavras. II. Título.

CDD – 635.65294

JOYCE MENDES ANDRADE PINTO

**EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA
ANTRACNOSE DO FEIJOEIRO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 19 de março de 2009

Dra. Ângela de Fátima Barbosa Abreu Embrapa/Arroz e Feijão

Prof. Dr. Denilson Ferreira de Oliveira UFLA

Profa. Dra. Elaine Aparecida de Souza

UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

A Deus, que me ergueu em todos os momentos quando em mim não mais existia força para seguir e me proporcionou o convívio com pessoas essenciais na minha vida.
A meus pais e avós.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, que está a frente de todas minhas decisões e vitórias.

À Universidade Federal de Lavras, ao Departamento de Biologia e ao Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade de realização do mestrado.

À Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

À professora e orientadora Elaine Aparecida de Souza, pelos conselhos, compreensão, ensinamentos e amizade nesses anos de convivência.

Ao professor Denílson Ferreira de Oliveira, pelo carinho, pelos conselhos e ensinamentos durante o mestrado.

À Dra Ângela de F. B. Abreu, pela participação na banca examinadora e auxílio no aperfeiçoamento do trabalho.

Aos professores do programa, César, Flávia, João Bosco, João Cândido e Magno, por me ajudarem a trilhar o caminho de estudante e futura profissional.

Aos funcionários do Departamento de Biologia (Elaine, Erundina, Heloísa, Lamartine, Rafaela e Zélia), pelo auxílio na realização dos trabalhos e pela amizade.

Aos alunos do Laboratório de Produtos Naturais, pelo auxílio na preparação dos extratos vegetais.

A toda minha família e, principalmente, minhas irmãs.

A cada um dos meus amigos eternos de graduação, que deixam saudades da convivência diária e maravilhosa.

Aos meus amigos Alex, Carla, Dayene, Dudu, Márcia Conceição, Márcia Rufini, Marcinho, Natália e Paulina, pela sincera e longa amizade.

Aos colegas da Genética, pela boa convivência e companheirismo. Em especial, André, Aninha, Cristiane, Dheyne, Flávia, Francine, Jerônimo, Osnil, Quélen, Rogério e Rafaela, pelas diversões e conselhos. E aos meus maiores apoios durante a realização do curso: Ester, Fernandinha, Márcio e Thaís.

A meus pais, que me deram toda educação e discernimento para lutar e nunca desistir e, principalmente, pelo amor e carinho.

Ao meu namorado, Antonio, por quem o tempo de convivência só fez aumentar a admiração e o carinho, por me apoiar e por lutar junto comigo.

A todos aqueles que lutaram, pensaram ou agiram em meu favor, obrigada por existirem.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	i
ABSTRACT	ii
1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1 Cultura do feijoeiro-comum.....	3
2.2 Antracnose do feijoeiro.....	3
2.3 Perspectivas de controle da doença.....	6
2.3.1 Melhoramento genético.	6
2.3.2 Controle químico	7
2.3.3 Indução de resistência	8
2.4 Bioprospecção.....	8
2.5 Uso de extratos vegetais no controle de doenças de plantas.....	9
2.6 Utilização de extratos vegetais no controle de <i>C. lindemuthianum</i>	16
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	18
3.1 Isolamento e manutenção dos isolados de <i>C. lindemuthianum</i>	18
3.2 Obtenção dos extratos vegetais.....	18
3.3 Seleção <i>in vitro</i> dos extratos vegetais com potencial fungitóxico contra <i>C. lindemuthianum</i>	22
3.4 Determinação da concentração inibitória mínima dos extratos vegetais	24
3.5 Avaliação <i>in vivo</i> dos extratos vegetais com potencial fungitóxico contra <i>C. lindemuthianum</i>	25
3.5.1 Avaliação do efeito local dos extratos vegetais na severidade da antracnose do feijoeiro.....	25
3.5.2 Avaliação do efeito sistêmico dos extratos vegetais na severidade da antracnose do feijoeiro.....	26
3.6 Análise dos dados	27
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1 Ensaios <i>in vitro</i>	29
4.1.1 Seleção de extratos vegetais com potencial fungitóxico contra <i>C. lindemuthianum</i>	29
4.1.2 Efeito dos extratos vegetais no crescimento micelial de <i>C. lindemuthianum</i>	31
4.1.3 Efeito dos extratos vegetais na porcentagem de germinação de conídios de <i>C. lindemuthianum</i>	33
4.1.4 Determinação da concentração inibitória mínima dos extratos vegetais ...	35
4.2 Ensaios <i>in vivo</i>	36
4.2.1 Avaliação do efeito local dos extratos vegetais na severidade da antracnose do feijoeiro.....	36

4.2.2 Avaliação do efeito sistêmico dos extratos vegetais na severidade da antracnose do feijoeiro.....	39
5 CONCLUSÕES	43
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
ANEXOS	56

RESUMO

PINTO, Joyce Mendes Andrade. **Extratos vegetais no controle da antracnose do feijoeiro**. 2009. 57p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Este trabalho foi realizado com o objetivo de selecionar plantas da região do Alto Rio Grande e do Vale do São Francisco, no estado de Minas Gerais, Brasil, ativas no controle da antracnose do feijoeiro. Inicialmente, submetem-se 340 extratos vegetais a testes *in vitro* de crescimento do fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (LV117) em placas de 96 cavidades, o que permitiu selecionar 13 extratos com potencial para o controle do mencionado fungo: *Astronium fraxinifolium*, *Inga marginata*, *Malva sylvestris*, *Matayba eleagnoides*, *Miconia argyrophylla*, *Myrcia fallax*, *Ocimum gratissimum*, *Origanum vulgare*, *Rollinia emarginata*, *Siparuna arianaeae*, *Styrax pohlii*, *Tabebuia serratifolia* e *Trichilia pallida*. Avaliou-se a atividade *in vitro* dos extratos dessas plantas na inibição do crescimento micelial e da germinação de conídios em experimentos conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, empregando-se quatro isolados do fungo: LV54, LV72, LV80 e LV115. Os extratos de *M. argyrophylla*, *M. fallax*, *O. vulgare*, *S. arianaeae* e *S. pohlii* foram os mais promissores na avaliação do crescimento micelial, enquanto os extratos de *M. argyrophylla*, *M. eleagnoides* e *O. gratissimum* apresentaram os melhores resultados na inibição da germinação de conídios. A seguir, foram realizados experimentos *in vivo* para avaliar o efeito local e sistêmico dos extratos vegetais selecionados na redução da severidade da antracnose em plantas de feijoeiro inoculadas com *Colletotrichum lindemuthianum*, em casa de vegetação. Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 15, sendo empregados dois isolados (LV54 e LV117), os 13 extratos vegetais acima mencionados e as duas testemunhas (Cercobin 700 e Tween 80 a 1%). Os extratos de *M. argyrophylla* e *O. vulgare* propiciaram a maior redução na severidade da doença, na avaliação do efeito local. Na avaliação do efeito sistêmico, *I. marginata*, *M. argyrophylla*, *M. fallax*, *M. sylvestris*, *O. gratissimum*, *O. vulgare* e *S. arianaeae* apresentaram inibição da severidade da doença superior a 35%, em relação à testemunha Tween 80, sendo consideradas as espécies vegetais mais promissoras no controle da antracnose do feijoeiro.

* Comitê orientador : Profa. Elaine Aparecida de Souza – UFLA (orientadora) e Denilson Ferreira de Oliveira.

ABSTRACT

PINTO, Joyce Mendes Andrade. **Plant extracts for the control of common bean anthracnose disease**. 2009. 57p. Dissertation (Master Degree in Genetics and Plant Breeding)-Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

The present study aimed to evaluate plants from Alto Rio Grande and Vale do São Francisco regions, in Minas Gerais State, Brazil, for the control of common bean anthracnose disease. Initially, 340 methanol plant extracts were tested for inhibition of fungal growth against *Colletotrichum lindemuthianum*, in 96-well polypropylene plates. Only 13 plant extracts showed potential in direct control of the fungus: *Astronium fraxinifolium*, *Inga marginata*, *Malva sylvestris*, *Matayba eleagnoides*, *Miconia argyrophylla*, *Myrcia fallax*, *Ocimum gratissimum*, *Origanum vulgare*, *Rollinia emarginata*, *Siparuna arianaeae*, *Styrax pohlii*, *Tabebuia serratifolia* and *Trichilia pallida*. The selected extracts were employed in assays to evaluate their effect on mycelia growth and conidia germination. Both experiments were performed in a completely randomized design, using the following *C. lindemuthianum* strains: LV54, LV72, LV80 and LV117. The extracts of *M. argyrophylla*, *M. fallax*, *O. vulgare*, *S. arianaeae* and *S. pohlii* were the most active in the mycelia growth test, while *M. argyrophylla*, *M. eleagnoides* and *O. gratissimum* afforded the highest values for percentage of conidia germination inhibition. Then, *in vivo* tests were performed to evaluate the local and systemic effect of the selected plant extracts on the common bean anthracnose disease, using *C. lindemuthianum*-inoculated common bean plants in a greenhouse. The experiments were conducted in a completely randomized design with four replications, in a 2 x 15 factorial design. Two strains (LV54 and LV117) of *C. lindemuthianum*, 13 plant extracts and two controls (Tween 80 at 1% and Cercobin 700) were used in the tests. *M. argyrophylla* and *O. vulgare* extracts had the best performance for the local effect. In the evaluation of systemic effect, *I. marginata*, *M. argyrophylla*, *M. fallax*, *M. sylvestris*, *O. gratissimum*, *O. vulgare* and *S. arianaeae* were the most efficient, reducing the disease severity in 35% when compared to the control (Tween 80). These plants are most promising for the control of common bean anthracnose disease.

* Guidance committee: Elaine Aparecida de Souza - UFLA (Major Professor) and Denilson Ferreira de Oliveira.

1 INTRODUÇÃO

O cultivo do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) tem grande importância econômica e social para o Brasil, que é o maior produtor e consumidor mundial de feijão (Paula Júnior et al., 2008). No entanto, a produtividade média brasileira é baixa devido às diversas doenças que interferem no cultivo dessa leguminosa (Pereira et al., 2004).

A antracnose, cujo agente etiológico é o fungo *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. & Magn.) Scribner, destaca-se entre as principais doenças que interferem na produtividade do feijoeiro. As perdas na produção podem ser da ordem de 100%, quando sementes contaminadas são utilizadas para plantio e ocorrem períodos prolongados de condições favoráveis ao desenvolvimento da doença (Chaves, 1980).

É desejável que a principal medida de controle da antracnose seja a resistência genética, por apresentar grande potencial para minimizar os custos de produção e reduzir os danos causados ao ambiente. Entretanto, devido à existência de muitas raças fisiológicas e da alta variabilidade do patógeno, o controle genético e a obtenção de cultivares resistentes duráveis se tornam extremamente difíceis (Silva et al., 2007). Diante desse problema, é comum a realização de intervenções químicas (Wordell Filho, 2004).

Apesar da eficiência comprovada e da facilidade de aplicação, o uso contínuo de fungicidas sintéticos pode resultar no aparecimento de problemas sócio-ambientais. Podem-se citar como exemplos o surgimento de patógenos resistentes aos produtos utilizados, a contaminação de alimentos e do ambiente e a intoxicação de homens e animais (Ghini & Kimati, 2000; Talamini & Stadinik, 2004).

Por essas razões, verifica-se uma tendência crescente pela procura de defensivos alternativos que sejam praticamente atóxicos e com custo reduzido

para aquisição e emprego (Fernandes, 2000). Entre as práticas alternativas que podem ser adotadas para um controle ecológica e economicamente viável, está o uso de óleos essenciais e extratos vegetais (Stangarlin et al., 1999). Diversos trabalhos desenvolvidos com extratos de plantas têm demonstrado o seu potencial no controle de fitopatógenos (Bautista-Banões et al., 2003; Moreira et al., 2004; Mytle et al., 2004).

Diante do exposto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de estudar o efeito *in vitro* de extratos metanólicos de plantas das regiões do Alto Rio Grande e do Vale do São Francisco, em Minas Gerais, sobre o fungo *C. lindemuthianum* e avaliar a eficácia dos mais promissores extratos no controle *in vivo* da antracnose do feijoeiro-comum.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do feijoeiro-comum

O feijoeiro-comum (*Phaseolus vulgaris* L.) é a espécie mais cultivada entre as demais do gênero, representando cerca de 95% da produção mundial de feijão (Bonett et al., 2008). Tal *commodity* é um dos componentes básicos da dieta alimentar em países em desenvolvimento das regiões subtropicais, sendo uma importante fonte de proteínas e fibra alimentar, especialmente para a população de baixa renda (Companhia Nacional de Abastecimento - CONAB, 2009).

O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial dessa leguminosa, tendo produzido 3.407.906 toneladas de feijão no ano de 2008, em uma área total plantada de 3.768.589 de hectares (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2009). A produtividade média do feijoeiro, em todo o território nacional, ainda está em 900 kg/ha, o que está muito aquém de seu potencial produtivo (IBGE, 2009). Este fato se deve a uma série de fatores bióticos e abióticos, dentre os quais se destacam os problemas fitossanitários, que acarretam perdas para a qualidade e a produtividade do feijoeiro (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Embrapa, 2009).

2.2 Antracnose do feijoeiro

A antracnose é uma das principais doenças fúngicas do feijoeiro-comum em regiões subtropicais e temperadas, especialmente em localidades com temperaturas de moderadas a frias (13°-27°C) e alta umidade relativa (acima de 91%) (Kimati et al., 1997). No Brasil, prevalece nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco, Espírito Santo, Alagoas, Sergipe e Paraíba (Dalla Pria et al., 2003).

O patógeno *Colletotrichum lindemuthianum*, agente etiológico da antracnose, pertence à classe dos Deuteromicetos, ordem Melanconiales e à família Melanconiaceae (Rava et al., 1994). O fungo é hemibiotrófico intracelular e se reproduz assexuadamente, produzindo conídios hialinos, unicelulares e cilíndricos (Kimati et al., 1997). Na fase perfeita, o patógeno é conhecido como *Glomerella cingulata* (Stonem Spauld & V. Schrenk f.sp. *phaseoli*), pertencente à classe dos Ascomicetos e à ordem Diaportales. Produz, em estado sexual, peritécio e ascos, dentro dos quais se originam os conídios denominados ascósporos (Kimati, 1980).

O patógeno apresenta várias estruturas infectivas, dentre as quais se encontram ganchos de penetração, tubos germinativos, apressórios, hifas primárias e secundárias. Os conídios de *C. lindemuthianum* apresentam capa esponjosa, porosa, composta por uma série de glicoproteínas. Durante o processo infectivo, o conídio adere à cutícula e germina, emitindo o tubo germinativo que se diferencia formando o apressório. Dos apressórios, emergem as hifas de penetração, que penetram diretamente na cutícula (Connell et al., 2000).

Nas cultivares suscetíveis para o patossistema *C. lindemuthianum*/*P. vulgaris*, as células penetradas se mantêm, inicialmente, vivas. Durante a fase biotrófica, a membrana plasmática e o protoplasma da célula do vegetal se expandem e invaginam em torno da vesícula infectiva e da hifa primária. Após 24 horas da penetração, a membrana plasmática do hospedeiro perde a integridade, o que causa a degeneração e a consequente morte da célula vegetal. As hifas intracelulares começam a retirar nutrientes das células mortas, iniciando a fase necrotrófica. Como não há indução dos mecanismos de defesa por parte da planta, a morte das células vegetais acarreta o aparecimento dos sintomas macroscópicos da doença. Hifas primárias continuam os processos biotróficos e as hifas secundárias colonizam o tecido intra e intercelularmente. Com isso,

iniciam-se a apresentação de sintomas e a produção de compostos de defesa na planta (Connell et al., 2000).

Os sintomas da antracnose aparecem em todos os estágios de crescimento, nos órgãos aéreos da planta, a partir de cinco dias do contato com o fungo (Chaves, 1980; Kimati et al., 1997). O patógeno pode afetar as sementes, produzindo lesões nos tecidos dos cotilédones. As sementes infectadas são ligeiramente descoloridas, podendo apresentar cancras, cuja coloração varia de amarela a café-escuro ou negra (Sartorato, 1988; Schwartz, 1994). No pecíolo e no caule, as lesões são ovaladas, deprimidas e de coloração escura (Sartorato, 1988). Nas folhas, as lesões ocorrem, inicialmente, na face abaxial, ao longo das nervuras, como pequenas manchas de cor pardo-avermelhada que se tornam café-escuro a negras. Nas vagens, as lesões são arredondadas, deprimidas e apresentam o centro claro, delimitado por um anel negro levemente protuberante, rodeado por um bordo de coloração laranja-avermelhada. Essas lesões podem coalescer e cobrir parcialmente as vagens. Sob temperatura e umidade adequadas, observa-se a esporulação rosada no centro das lesões (Sartorato, 1988; Schwartz, 1994).

O fungo sobrevive, entre as estações de cultivo, na forma de conídios em restos culturais. Entretanto, sementes infectadas são a principal via de sobrevivência e disseminação do patógeno (Vechiato et al., 2001). A transmissão do patógeno por longas distâncias ocorre por meio de sementes contaminadas e, a curta distância, por meio de água da chuva ou de irrigação. Outros agentes de disseminação são o homem, os insetos, os animais e as máquinas agrícolas (Vieira et al., 1993).

As perdas ocasionadas por esta doença podem ser da ordem de 100%, principalmente quando sementes contaminadas são utilizadas para plantio e ocorrem períodos prolongados de condições favoráveis ao seu desenvolvimento (Chaves, 1980). As perdas são maiores quando cultivares suscetíveis são

utilizadas e quando o aparecimento da doença na lavoura é precoce (Carbonell et al., 1999). Além de diminuir o rendimento da cultura, os sintomas da antracnose depreciam a qualidade do produto, por ocasionarem manchas nos grãos, tornando-os impróprios para o consumo (Dalla Pria et al., 2003).

A primeira comprovação da existência de variabilidade patogênica em *C. lindemuthianum* foi obtida por Barrus (1911), ao constatar que cultivares de feijoeiro inoculadas com isolados de diferentes procedências tinham comportamento diferenciado. As raças ou patótipos de *C. lindemuthianum* são determinadas por meio da inoculação do patógeno no conjunto de doze cultivares diferenciadoras propostas pelo CIAT (Pastor-Corrales, 1992). Atualmente, mais de cem raças de *C. lindemuthianum* já foram identificadas em todo o mundo (Silva et al., 2007).

Ishikawa et al. (2008), ao estudarem a reação das cultivares diferenciadoras em relação a 53 isolados de *C. lindemuthianum*, no estado de Minas Gerais, verificaram a ocorrência das raças 8, 9, 64, 65, 72, 73, 81, 321, 329 e 337, tendo o patótipo 65 sido o mais frequente.

2.3 Perspectivas de controle da doença

2.3.1 Melhoramento genético

É desejável que o emprego da resistência genética seja a estratégia mais utilizada no controle da antracnose do feijoeiro, alcançando destaque dentro de um sistema integrado de controle, visando à redução das perdas ocasionadas pela doença. No entanto, a resistência genética é dificultada pela ampla variabilidade patogênica detectada dentro de *C. lindemuthianum*, que reduz a durabilidade da resistência das cultivares melhoradas (Silva et al., 2007).

Esta variabilidade é considerada consequência da pressão na recente história evolucionária da espécie, devido à exacerbada utilização de fungicidas, ao monocultivo, à ampla distribuição da cultura e, ainda, à presença de

mecanismos de recombinação do patógeno, o que resulta, geralmente, em curta duração das cultivares de feijoeiro resistentes em condições de campo (Sutton, 1992; Kelly et al., 1994; Silva et al., 2007).

2.3.2 Controle químico

O controle químico da antracnose é realizado por meio do tratamento de sementes, já que estas constituem o principal meio de disseminação da doença, e por meio de pulverizações aéreas (Bianchini et al., 2005). Paula Júnior et al. (2008) recomendam o tratamento de sementes com produtos que tenham ingredientes ativos como dicarbiximida, triazol e fenilpirrol, entre outros. Para a aplicação em parte aérea, alguns dos ingredientes ativos recomendados são azoxistrobina, carbendazim, clorotalonil, piraclostobina, tiofanato metílico (cercobin) e óxido de trifenilestanho. O controle se dá de forma preventiva ao estabelecimento da doença, não sendo recomendado o uso de fungicidas sistêmicos com efeito curativo, pois os mesmos aumentam os custos de produção sem controlar a doença de forma significativa (Oliveira, 2003).

Os produtos químicos podem ser perigosos se forem utilizados de forma incorreta, causando contaminação do solo, da água e do próprio homem. No Brasil, estima-se que cerca de 150 a 200 mil trabalhadores se contaminem com agrotóxicos, todos os anos (Embrapa, 2009).

Considerando-se os aspectos mencionados e levando em consideração a biodiversidade brasileira, pode-se acreditar que é possível reduzir os impactos da agricultura na natureza, ao se optar por métodos alternativos ao controle químico. Para tanto, no grupo das possibilidades aparentemente mais viáveis estão incluídos o controle biológico, a indução de resistência e o uso de produtos de origem natural com propriedades antimicrobianas e/ou indutoras de resistência (Moraes, 1992; Schwan-Estrada et al., 2003).

2.3.3 Indução de resistência

A indução de resistência é um fenômeno comum na natureza, que pode ocorrer devido a algum tipo de estresse ou pré-infecção por algum patógeno, tornando as plantas mais resistentes a infecções subsequentes por outros patógenos. Este fenômeno biológico tem sido investigado com a perspectiva de se encontrar medidas de controle de doenças de plantas, pois apresenta potencial para origem de metodologias mais eficientes e menos agressivas à saúde humana e ao equilíbrio de agroecossistemas (Stadnik & Maraschin, 2004).

Na indução de resistência, a planta tenta impedir a penetração do apressório e o crescimento das hifas do fungo por meio de barreiras nos pontos de tentativa de invasão, ativando os mecanismos de defesa da planta que se encontram inativos ou latentes (Alström, 1991).

As atividades de defesa são transmitidas intercelularmente e endogenamente a toda a planta, sinalizando uma resposta sistêmica de defesa (Lawton & Lamb, 1988). Algum tipo de sinal – químico, bioquímico ou energético – deve ter sua gênese no sítio de indução e ser enviado a locais mais distantes, em uma espécie de reação biológica em cadeia. Pesquisas recentes têm sugerido substâncias e alguns mecanismos a elas associados que podem ser interpretados como sinais biológicos, dentre os quais se pode mencionar o ácido salicílico, jasmonatos, sisteminas, etileno e mesmo sinais elétricos (Alström, 1991).

2.4 Bioprospecção

O Brasil possui a maior biodiversidade vegetal do planeta, com mais de 55 mil espécies de plantas superiores, o que corresponde a quase 25% de todas as espécies vegetais existentes. Apesar do expressivo número de espécies conhecidas, acredita-se que o valor atual represente apenas de 60% a 80% das plantas realmente existentes no país (Portalamazônia, 2009). Moreira et al.

(2004) afirmam ainda que apenas 5,8% das patentes relacionadas a plantas brasileiras são de titulares nacionais.

A importância dessa biodiversidade passou a ser compreendida a partir do desenvolvimento da biotecnologia e da crescente demanda por novos produtos químicos e fármacos (Viana et al., 1998). Assim, surgiu uma nova forma de abordar as propriedades biológicas dos produtos naturais: a bioprospecção. Definida como um método para se localizar e avaliar sistemática e legalmente a diversidade de vida existente, seu objetivo principal é a busca de recursos genéticos e bioquímicos na natureza (Santos, 2008).

Na agricultura, o emprego de produtos naturais para o controle de doenças de plantas tem sido considerado relevante nas políticas científicas de diversos países. As preocupações com o meio ambiente e o aumento nos custos de produção advindos do uso de produtos químicos sintéticos para o controle de doenças em plantas, aliados à exigência constante dos consumidores por produtos livres de agrotóxicos, têm impulsionado ainda mais a busca por novos produtos fitossanitários naturais (Talamini & Stadnik, 2004).

2.5 Uso de extratos vegetais no controle de doenças de plantas

De forma simplificada, pode-se dizer que o extrato vegetal é a fração solúvel em algum solvente (hexano, acetato de etila, metanol, água, etc.) de uma determinada parte (folha, casca, raiz, etc.) da espécie vegetal em estudo. Para tanto, existem várias formas de se proceder para colocar o solvente em contato com a parte vegetal, que pode ser previamente seca e moída ou não. Critérios úteis na seleção de espécies vegetais com potencial uso no preparo de extratos são a facilidade de cultivo da planta e a sua capacidade de produzir matéria-prima em quantidade suficiente para usos posteriores.

Alguns cuidados devem ser tomados na coleta e no manuseio dos espécimes vegetais. Por exemplo, na coleta se deve observar a estação do ano e

o horário em que há maior produção do princípio ativo, além do estágio de desenvolvimento da espécie. Já no manuseio, é aconselhável evitar exposição a raios solares e danos por esmagamento, para que não ocorra a degradação dos princípios ativos (Talamini & Stadinik, 2004).

Estudos envolvendo a utilização de extratos vegetais como defensivos alternativos, objetivando o controle de fitopatógenos, podem contribuir para atender à crescente demanda por produtos que controlem doenças em culturas não contempladas pela agricultura convencional; para a substituição dos fungicidas sintéticos tóxicos por fungicidas com baixa toxidez; para o desenvolvimento opções viáveis de controle de doenças fúngicas em cultivos orgânicos e, ao mesmo tempo, para o desenvolvimento de métodos eficazes a serem utilizados dentro do manejo integrado de doenças (Penteado, 2001).

Extratos de plantas podem apresentar atividade elicitora de reações de defesa da planta contra fitopatógenos (Talamini & Stadinik, 2004), induzindo resistência ao patógeno nas espécies hospedeiras (Lindsey & Staden, 2004). Podem também apresentar ação direta, já que substâncias neles presentes podem ser tóxicas aos fungos, o que significa que possuem potencial para a produção de novos fungicidas menos agressivos ao meio ambiente (Stadnik & Maraschin, 2004).

São considerados como defensivos alternativos todos os produtos que possuam as seguintes características: praticamente não tóxicos (classe toxicológica IV); baixa agressividade ao homem e à natureza; eficientes no combate a microrganismos nocivos; custo reduzido para aquisição e emprego e simplicidade quanto ao manejo e à aplicação. Como os extratos apresentam potencial para satisfazer a todas estas características, são promissores fontes de defensivos alternativos (Penteado, 2001; Yunes & Cechinel Filho, 2001).

Existem, na literatura, vários relatos que comprovam a atividade antifúngica das plantas (Tabela 1). Em geral, inicialmente, são realizados testes

in vitro e, posteriormente, depois de verificada a atividade antifúngica nas condições de laboratório, realizam-se os testes *in vivo*, em casa de vegetação ou em condições de campo.

Amaral & Bara (2005), estudando o extrato de açafrão (*Curcuma longa* L.) na concentração de 1mg/mL, observaram uma inibição superior a 50% do crescimento de *Fusarium oxysporum* Schlecht e *Rhizoctonia solani* Kuhn., em relação à testemunha. No mesmo trabalho, o extrato de coração-de-negro (*Albizia lebbbeck* L.) estimulou o crescimento dos fungos *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. e *Sclerotium rolfsii* Sacc., sugerindo a presença de alguma substância ativadora deste crescimento. Em estudo anterior com *F. oxysporum*, Cunico et al. (2002) demonstraram que o extrato etanólico de *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss inibiu em mais de 10% o crescimento micelial do fungo.

Ainda em relação a alguns trabalhos relevantes, pode-se citar o de Dias et al. (2006), que realizaram estudos com os extratos etanólicos do caule e da folha de *Aster lanceolatus* Willd. e observaram que, na concentração de 0,57 mg/mL, tratavam-se de agentes capazes de inibir, aproximadamente, 50% do crescimento micelial de *F. oxysporum*, em relação à testemunha.

Em outra pesquisa, Bajpai et al. (2008) revelaram a atividade antifúngica *in vitro* do extrato da folha de *Silene armeria* L. contra *F. oxysporum*, *F. solani*, *Phytophthora capsici* Leonian, *Colletotrichum capsici* (Syd.) Butler e Bisby, *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, *Botrytis cinerea* Pers. e *R. solani*, demonstrando que *S. armeria* possui um amplo espectro de ação e pode tornar-se uma alternativa aos fungicidas sintéticos para o controle de importantes doenças de plantas.

TABELA 1 Relatos, na literatura, que comprovam a atividade antifúngica das plantas.

Plantas de origem dos extratos	Fungos fitopatogênicos inibidos	Referência
<i>Quillaja saponaria</i> Mol. (Quillay)	<i>B. cinerea</i>	Ribera et al. (2008)
<i>Coffea arabica</i> L.	<i>Cercospora coffeicola</i> Berk. <i>Phoma</i> sp. <i>R. solani</i>	Resende (2004) Amaral (2005)
<i>Cymbopogon citratus</i> (DC) Stapf.	<i>Fusarium solani</i> f. sp. <i>phaseoli</i> (Burk.) Snyder & Hans <i>F. oxysporum</i>	Valarini et al. (1994)
<i>Agapanthus africanus</i> L.	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Kiessler <i>Mycosphaerella pinodes</i> (Beik & Bloxam) Vestergien	Tegegne et al. (2008)
<i>Allium sativum</i> L.	<i>Fusarium proliferatum</i> Machacek <i>F. oxysporum</i>	Souza et al. (2007) Morais (2004)
<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf.	<i>F. proliferatum</i> <i>Fusarium</i> spp. <i>Alternaria brassicae</i> (Berk.) Sacc.	Souza et al. (2007) Cruz et al. (1997)
<i>Pterodon emarginatus</i> Vogel.	<i>F. oxysporum</i> <i>R. solani</i> <i>Fimbriata ceratocystis</i> Ellis & Halsted	Silva et al. (2005)
<i>Mimosa scabrella</i> Benth.	<i>Colletotrichum lagenarium</i> (Pass.) Penz. & Sacc.	Oliveira et al. (1992)
<i>Piper longum</i> L.	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> Penz	Ribeiro & Bebendo (1999)
<i>Nerium oleander</i> L.	<i>Cochliobolus miyabeanus</i> (Ito & Kurib.) Drechs. Ex Dastur	Harish et al. (2008)
<i>Pithecolobium dulce</i> Benth.		

Para o controle *in vitro* da antracnose (*Colletotrichum graminicola* (Ces.) Wils) e da podridão (*Thielaviopsis paradoxa* (Dade) C. Moreau) do abacaxi (*Ananas comosus* (L.) Merr.), foram utilizados extratos de folhas de laranjeira (*Citrus aurantium* L.) e eucalipto (*Eucalyptus* sp.), do caule de gengibre (*Zingiber officinale* Rosc.) e do botão floral seco de cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. e L.M. Perry). O extrato de cravo-da-índia inibiu em 100% o crescimento micelial de *C. graminicola* e de *T. paradoxa*. O extrato de eucalipto inibiu em 90% o crescimento micelial de *C. graminicola* em relação à testemunha. Quanto aos extratos de laranjeira e gengibre, estes não apresentaram atividade antifúngica sobre os patógenos (Florido et al., 2008).

Há várias questões a serem levadas em consideração para a realização dos testes *in vivo* que, em geral, podem ser realizados em casa de vegetação ou em condições de campo. Uma delas consiste na possibilidade da proteção obtida contra determinado patógeno poder ser local ou sistêmica, dependendo do intervalo de tempo entre o tratamento inicial (indutor) e a inoculação do patógeno (desafiador). Sua duração pode ser de poucos dias a algumas semanas ou, mesmo, durar todo o ciclo de vida da planta (Leite & Pascholati, 1995), passando, assim, a funcionar como um mecanismo de defesa constitutivo da mesma.

Em trabalho desenvolvido em condições de campo, utilizando extratos de mamona (*Ricinus communis* L.), avaliou-se o efeito da aplicação em plantas de soja, de extratos de casca de mamona, torta de mamona e da torta de mamona+silicato de cálcio sobre a severidade da ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* Sydow e P. Sydow. O extrato de torta de mamona+silicato de cálcio propiciou uma redução de 74% da ferrugem em relação à testemunha (Silva Júnior et al., 2009).

De acordo com Santos & Ponte (1993), a manipueira, líquido extraído da mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) durante a prensagem da massa para a produção de farinha, demonstrou alta eficiência no controle do oídio (*Oidium* sp.) e do urucum (*Bixa orellana* L.) em testes *in vivo*,

apresentando resultados superiores ao do fungicida tradicionalmente utilizado. De forma análoga, Sena & Ponte (1982) já haviam relatado a capacidade da manipueira em controlar o nematoide *Meloidogyne* sp. em cenoura (*Daucus carota* L.).

O produto comercial Ecolife[®], produzido à base de extrato de biomassa cítrica, é extensivamente utilizado entre os produtores orgânicos para o controle de fitopatógenos (Natural Rural, 2004). Motoyama et al. (2003) demonstraram que, além de o Ecolife[®] induzir a produção de fitoalexinas em soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e em sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), ele apresentou atividade antifúngica sobre os fungos *C. lagenarium* e *Fusarium semitectum* Berk. & Ravenel.

O extrato da planta daninha *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai foi registrado em setembro de 2000, com o nome comercial Milsana[®], pela Environmental Protection Agency (EUA), para o controle do oídio (*Sphaerotheca fuliginea* (Schlecht. ex Fr.) Poll.) e do mofo cinzento (*B. cinerea*) (Environmental Protection Agency, 2004). O extrato aquoso, aplicado na concentração de 2 mg/mL, controlou o oídio do pepino de maneira tão eficiente quanto o fungicida sistêmico Benomyl (Daayf et al., 1995).

Em alguns casos, a correlação entre os testes *in vitro* e *in vivo* não é positiva, havendo, portanto, necessidade da realização de ambos os experimentos para uma maior acurácia dos resultados. Segundo Pereira (2006), o extrato de casca de café (*C. arabica*) não propiciou redução da germinação de conídios do fungo *C. coffeicola*, agente causal da cercosporiose no café. No entanto, o tratamento das plantas com o extrato, sete dias antes da inoculação em condições de campo, propiciou incidência da doença 32% inferior à testemunha, na avaliação após 45 dias da inoculação.

Diversos são os exemplos da confirmação do efeito *in vitro* em testes *in vivo*. *Satureja hortensis* L. apresenta atividade antifúngica, na literatura, contra diversos fitopatógenos. Dikbas et al. (2008) avaliaram o efeito do

extrato metanólico desta espécie contra *Aspergillus flavus* White e Hill, em testes *in vitro* e por meio de aplicações em frutas armazenadas. Os resultados foram positivos, tendo o tratamento das frutas sete dias antes da inoculação do patógeno inibido completamente seu crescimento. Em trabalho anterior, Gulluce et al. (2003) já haviam descrito o potencial antifúngico da planta contra outras 15 espécies de fungos e 23 espécies de bactérias em experimentos *in vitro*.

Itako et al. (2008) realizaram testes *in vitro* para verificar a atividade antifúngica de extratos aquosos de *Achillea millefolium* L., *Artemisia camphorata* Vill., *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. e *Rosmarinus officinalis* L. contra *Alternaria solani* (Ell. e Mart.) Jones e Grout. Nenhum extrato estudado apresentou inibição do crescimento micelial. Entretanto, todos eles demonstraram efeitos significativos na redução da germinação de conídios. No mesmo estudo, avaliou-se o efeito protetor destes extratos em plantas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum* Mil.), em casa de vegetação. Verificou-se redução no número de lesões nas folhas não tratadas, caracterizando um efeito sistêmico dos extratos. Também vale mencionar que o controle da pinta-preta do tomateiro, causada pelo fungo *A. solani*, pelo uso do extrato de *C. longa*, já havia sido citado na literatura (Balbi-Peña et al., 2006).

Relatos da literatura indicam um potencial controle do fitopatógeno *C. gloeosporioides*, agente causal da antracnose do mamão (*Carica papaya* L.), por meio do uso de extratos vegetais. Segundo Bautista-Banós et al. (2003), os frutos previamente tratados com extratos aquosos de sementes de mamão não tiveram contaminações durante a estocagem. Ainda na mesma linha de pesquisa, Celoto et al. (2008) afirmam que os extratos aquosos de *Luffa acutangula* (L.) Roxb., *Eucalyptus citriodora*, *Chenopodium ambrosioides* L. e os extratos hidroetanólicos de *Ruta graveolens* L., *E. citriodora*, *Z. officinale* e *C. ambrosioides* inibiram mais de 90% da germinação de esporos de *C. gloeosporioides*, em relação à testemunha utilizada.

Por fim, é importante destacar que, ao se avaliar a relação custo/benefício dos investimentos em pesquisas para o desenvolvimento de novas substâncias bioativas, verifica-se que os produtos naturais apresentam a grande vantagem de propiciarem uma variedade imensa de estruturas químicas, sem a necessidade de investimentos no desenvolvimento de novas moléculas para a realização de testes. Isso que pode reduzir o tempo de trabalho e os custos do projeto como um todo (Stadinik, 2003). Tal vantagem é importante, por exemplo, quando os produtos naturais são de origem vegetal, pois, segundo Azevedo (2003), as plantas representam uma fonte alternativa praticamente inesgotável de estruturas químicas diversas.

2.5.1 Utilização de extratos vegetais no controle de *C. lindemuthianum*

Nos testes realizados *in vitro* com óleo de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) sobre o crescimento de colônias de *C. lindemuthianum*, houve atividade em todas as concentrações utilizadas. No entanto, o nim foi mais eficaz na concentração de 1,25 mg/mL (Pignoni & Carneiro, 2005). Miguel et al. (2006) já haviam relatado redução significativa do crescimento micelial de *Colletotrichum* spp., isolados de fruto de morangueiro (*Fragaria vesca* L.), em decorrência da utilização de óleo de nim nas concentrações de 0,25, 0,5, 0,7 e 1 mg/mL.

Abreu et al. (2008) avaliaram o efeito local, residual e sistêmico de extratos de 17 espécies de macroalgas marinhas e de duas plantas aquáticas sobre a antracnose do feijoeiro. As algas e as plantas reduziram significativamente a severidade da doença aos 7 e aos 12 dias após a inoculação (d.a.i.). O extrato de *Bryothamnion seaforthii* (Turner) Kutz. apresentou efeito local, reduzindo em 35% a severidade da antracnose. O extrato de *Ulva fasciata* Delile demonstrou efeito residual, com redução de 22% na doença, aos 12 dias após a inoculação.

Segundo Fortes et al. (1999), Lonlife[®] (produto à base de extratos cítricos) tem comprovada ação sobre o crescimento de *C. lindemuthianum*. O fungo foi sensível à dose de 10 mg/mL, tendo havido redução significativa

no diâmetro das colônias com o aumento das concentrações do produto. Em testes com o produto comercial Ecolife[®], verificou-se inibição do crescimento de *C. lindemuthianum* em 74%, quando utilizado na concentração de 10 mg/mL (Fortes et al., 1999).

De acordo com Silva et al. (2008), os extratos das plantas medicinais *Costus pisonis* L., *A. millefolium* e *Plectranthus barbatus* Andrews. apresentam efeito fungitóxico sobre o crescimento micelial do agente causal da antracnose do feijoeiro, tendo o extrato de *P. barbatus* apresentado os melhores resultados. No estudo da ação fungitóxica de extratos de mamona (*R. communis*), o extrato aquoso da torta inibiu o crescimento do patógeno, enquanto os extratos alcoólicos de folha e da torta de mamona retardaram o seu desenvolvimento (Castro et al., 2006).

Segundo Lee et al. (2007), oito extratos de plantas medicinais foram testados contra fungos fitopatogênicos, dentre os quais se encontrava *C. lindemuthianum*. Os extratos de *Cinnamomum cassia* (L.) Presl., *Coptidis rhizoma* (RC), *C. longa*, *Pulsatilla koreana* Nakai., *Scutellaria baicalensis* Georgi., *Sinomenium acutum* (Thunb.) Rehd. & Wils., *Ulmus macrocarpa* L. K. Fu e *Z. officinale* já tinham relato, na literatura, de atividade antifúngica, tendo sido confirmados como agentes naturais de inibição do crescimento desses patógenos. Os estudos de Zambonelli et al. (1996) demonstraram que os extratos de *Thymus vulgaris* L., *Lavandula* sp. e *Mentha piperita* L. reduziram o crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, causando degeneração das hifas e extravasamento do citoplasma celular do fungo.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Produtos Naturais, no Departamento de Química e no Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças e em casa de vegetação, ambos no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

3.1 Isolamento e manutenção dos isolados de *C. lindemuthianum*

Foram utilizados quatro isolados monospóricos de *C. lindemuthianum*, sendo dois da raça 65 (LV 80 e LV117) e dois da raça 81 (LV54 e LV72), pertencentes à micoteca do Laboratório de Resistência de Plantas a Doenças.

Os isolados foram repicados para placas de Petri contendo meio de cultura M₃ (Junqueira et al., 1984) e, em seguida, foram colocadas em câmara de crescimento tipo BOD, à temperatura de 22±2°C e fotoperíodo de 12 horas. Após a colonização total, as placas foram mantidas em geladeira para a utilização do fungo nos testes *in vitro* e *in vivo*.

3.2 Obtenção dos extratos vegetais

Partes de 200 plantas foram coletadas nas regiões do Alto Rio Grande e do Vale do São Francisco, em Minas Gerais, Brasil. As seguintes partes de plantas foram utilizadas para o preparo dos extratos: cascas (Ca), folhas (Fo), flores (Fl), frutos (Fr) e talos (Ta). As espécies vegetais testadas foram: *Acacia polyphylla* DC. (Ca, Fo), *Achillea millefolium* L. (Fo, Fl), *Aegiphila lhotskiana* Cham. (Fo), *Ageratum conyzoides* L. (Fo), *Albizia polycephalla* (Benth.) Killip (Ca, Fo), *Alchornea glandulosa* Poepp. & Endl. (Ca, Fo), *Alchornea triplinervia* (Sprengel) Müll. Arg. (Ca, Fo), *Allophylus edulis* (A.St.-Hil.) Radlk. (Ca, Fo), *Allophylus semidentatus* (Miq.) Radlk. (Ca, Fo), *Amaioua guianensis* Aublet (Ca, Fo), *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan (Ca), *Andira fraxinifolia* Benth. (Ca, Fo), *Annona cacans* Warm. (Ca, Fo), *Annona squamosa* L. (Fo), *Artemisia absinthium* L. (Fo),

Artemisia annua L. (Fo), *Artemisia vulgaris* L. (Fo), *Aspidosperma subincanum* Mart. (Fo), *Astronium fraxinifolium* Scott (Fo), *Baccharis trimera* L. (Fo), *Bathyza meridionalis* Smith & Downs (Ca, Fo), *Bauhinia longifolia* (Bongard) Steudel (Ca, Fo), *Brugmansia suaveolens* (Willd.) Bercht. & Presl (Ca, Fo), *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. (Ca, Fo), *Callisthene major* Mart.(Ca, Fo), *Calendula officinalis* L. (Fo, Fl), *Calyptanthes clusifolia* (Miq.) O.Berg (Ca, Fo), *Calyptanthes grandifolia* O.Berg (Ca, Fo), *Cariniana estrellensis* (Raddi) Kuntze (Ca, Fo), *Cariniana legalis* (Mart.) Kuntze (Ca, Fo), *Casearia decandra* Jacquin (Ca), *Casearia sylvestris* Swartz (Ca, Fo), *Cecropia pachystachya* Trec. (Ca), *Celtis iguanaea* (Jacquin) Sargent (Ca, Fo), *Centella asiatica* (L.) Urban (Fo), *Chenopodium ambrosioides* L. (Fo), *Chenopodium ambrosioides* L. (Fo), *Chrysophyllum gonocarpum* (Mart. & Eichler) Engler (Ca, Fo), *Citrus aurantium* L. (Fo), *Citrus limon* (L.) Burm. (Fo), *Coffea arabica* L. (Fo), *Coix lacryma-jobi* L. (Fo), *Copaifera langsdorffii* Desf. (Fo), *Cordia ecalyculata* Vell. (Ca, Fo), *Croton floribundus* Sprengel (Ca, Fo), *Croton urucurana* Baillon (Ca, Fo), *Cryptocarya aschersoniana* Mez (Ca, Fo), *Cupania vernalis* Cambess.(Ca, Fo), *Curcuma longa* L. (Fo), *Cynara scolymus* L. (Fo), *Dalbergia villosa* (Benth.) Benth. (Ca), *Daphnopsis fasciculata* (Meisner) Nevling (Ca, Fo), *Datura metel* L. (Fo), *Dendropanax cuneatus* (DC.) Decne & Planchon (Ca, Fo), *Digitalis lanata* Ehrh. (Fo), *Diospyros hispida* A.DC. (Ca), *Duguetia lanceolata* A.St.-Hill. (Ca, Fo), *Equisetum arvense* L. (Ta), *Erythrina falcata* Benth. (Ca, Fo), *Esenbeckia febrifuga* (A.St.-Hil.) A.Juss. (Ca, Fo), *Eugenia excelsa* O. Berg (Ca, Fo), *Eugenia florida* DC. (Ca, Fo), *Eugenia handroana* D. Legrand (Fo), *Eugenia hyemalis* Cambess. (Ca, Fo), *Euphorbia tirucalli* L. (Ta), *Ficus carica* L. (Fo), *Ficus trigona* L.F. (Ca), *Foeniculum vulgare* Mill. (Fo, Ta), *Genipa americana* L. (Ca), *Ginkgo biloba* L. (Fo), *Glechoma hederacea* L. (Fo), *Gomidesia affinis* (Cambess.) D.Legrand (Fo), *Gomidesia lindeniana* O. Berg (Ca, Fo), *Guapira opposita* (Vell.) Reitz (Ca, Fo), *Guarea guidonea* (L.) Sleumer (Ca, Fo), *Guatteria australis* A.St.-Hil. (Ca, Fo), *Guazuma*

ulmifolia Lam. (Ca, Fo), *Gussonia concolor* Spreng. (Ca, Fo), *Hedera helix* L. (Fo), *Heisteria silvianii* Schwacke (Ca, Fo), *Ilex cerasifolia* Reiss. (Fo), *Inga laurina* (Swartz) Willd. (Ca), *Inga marginata* Willd. (Fo), *Inga vera* Willd. (Ca, Fo), *Ixora warmingii* Müll.Arg. (Ca, Fo), *Jatropha curcas* L. (Fo, Fl, Fr), *Justicia pectoralis* Vault. (Fo), *Lacistema hasslerianum* Chodat (Fo), *Laurus nobilis* L. (Fo), *Lavandula officinalis* Chaich (Fo), *Leonurus sibiricus* L. (Fo), *Licania octandra* (Hoffmg.) ex R. e S. Kuntze (Ca, Fo), *Lithracea molleoides* (Vell.) Engler (Fo), *Lonchocarpus guillemianus* (Tul.) Malme (Ca, Fo), *Luehea candicans* Mart. (Ca), *Luehea divaricata* Mart. & Zucc. (Ca, Fo), *Machaerium brasiliense* Vogel (Ca, Fo), *Machaerium hirtum* (Vell.) Stellfeld (Ca, Fo), *Machaerium stipitatum* (DC.) Vogel (Ca, Fo), *Machaerium villosum* Vogel (Ca, Fo), *Maclura tinctoria* (L.) D.Don. (Ca), *Malva sylvestris* L. (Fo), *Mangifera indica* L. (Fo), *Matayba eleagnoides* Radlk. (Ca, Fo), *Matayba guianensis* Aublet (Ca, Fo), *Maytenus glazioviana* Loesen (Ca, Fo), *Maytenus salicifolia* Reissek (Ca, Fo), *Melissa officinalis* L. (Fo), *Mentha arvensis* L. (Fo), *Mentha longifolia* (L.) Hudson (Fo), *Mentha piperita* L. (Fo), *Mentha pulegium* L. (Fo), *Mentha spicata* L. (Fo), *Miconia argyrophylla* DC. (Fo), *Miconia cinnamomifolia* (DC.) Naud. (Ca, Fo), *Mimosa pudica* L. (Fo, Fl), *Mollinedia argyrogyna* Perkins (Ca, Fo), *Momordica charantia* L. (Fo), *Musa sapientum* L. (Fo), *Myrcia fallax* (Rich.) DC. (Ca, Fo), *Myrcia tomentosa* (Aublet) DC. (Ca, Fo), *Myrcia velutina* O.Berg (Ca, Fo), *Myrsine ferruginea* (Ruiz e Pav.) Mez. (Ca, Fo), *Nectandra grandiflora* Nees (Ca, Fo), *Nectandra nitidula* Nees (Ca), *Nectandra oppositifolia* Nees (Fo), *Nepeta cataria* Catnip. (Fo), *Nicotiana tabacum* L. (Fo), *Ocimum basiculum* L. (Fo), *Ocimum gratissimum* L. (Fo), *Ocotea aciphylla* (Nees) Mez (Ca, Fo), *Ocotea corymbosa* (Meisner) Mez (Ca, Fo), *Ocotea velloziana* (Meisner) Mez (Fo), *Origanum vulgare* L. (Fo), *Pera glabrata* (Schott) Poepp. (Fo), *Persea pyrifolia* Nees & Mart. (Ca), *Piper tuberculatum* Jacq. (Ca), *Petiveria alliacea* L. (Fo), *Piper tuberculatum* Jacq. (Fo), *Plantago lanceolata* L. (Fo), *Platycomus regnellii* Benth (Ca, Fo), *Plinia grandifolia*

(Mattos) Sobral (Ca, Fo), *Porophyllum ruderale* (Jack.) Cass. (Fo), *Pouteria caimito* (Ruiz & Pavón) Radlk. (Ca), *Protium heptaphyllum* (Aublet) Marchand (Ca, Fo), *Protium spruceanum* (Benth.) Engler (Ca, Fo), *Prunus myrtifolia* (L.) Urban (Ca), *Psidium cattleianum* Sabine (Ca, Fo), *Psidium guajava* L. (Fo), *Pteridium aquilinum* L. (Fo), *Punica granatum* L. (Fo), *Rhamnidium elaeocarpum* Reissek (Ca), *Ricinus communis* L. (Fo), *Rollinia emarginata* Schldl. (Fo), *Rosamarinus officinalis* L. (Fo), *Ruprechtia laxiflora* Meisner (Fo), *Ruta graveolens* L. (Fo, Fl), *Salvia officinalis* L. (Fo), *Sambucus nigra* L. (Fo, Fl), *Sapindus saponaria* L. (Ca, Fo), *Schinus terebinthifolius* Raddi (Ca, Fo), *Sebastiania brasiliensis* Sprengel (Ca, Fo), *Securinega guaraiuva* Kuhl. (Ca, Fo), *Senna multijuga* (L.C.Rich.) Irwin & Barneby (Ca), *Simira glaziovii* (K. Schum.) Steyer. (Ca, Fo), *Simira sampaioana* (Standley) Steyer. (Fo), *Siparuna arianae* Aublet (Ca, Fo), *Sloanea monosperma* Vell. (Ca, Fo), *Solanum argenteum* Dunal (Ca, Fo), *Sonchus oleraceus* L. (Fo), *Sorocea bonplandii* (Baillon) W.Burger (Ca, Fo), *Strychnos brasiliensis* (Sprengel) Mart. (Fo), *Styrax pohlii* A.DC. (Fo), *Swartzia apelata* Raddi. (Fo), *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nichols (Ca, Fo), *Tagetes ssp.* L. (Fo, Fl), *Tanacetum vulgare* L. (Fo), *Tapirira guianensis* Aublet (Ca), *Taraxacum officinale* Cass. (Fo), *Terminalia argentea* Mart. et Zucc (Ca, Fo), *Terminalia brasiliensis* Camb. (Ca, Fo), *Tetradenia riparia* (Hoechst) N. E. Br (Fo), *Thymus vulgaris* L. (Fo), *Tilia cordata* Mill (Fo), *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) Gray (Fo), *Trema micrantha* (L.) Blume (Ca, Fo), *Trichilia catigua* A.Juss. (Ca, Fo), *Trichilia claussenii* C.DC. (Ca, Fo), *Trichilia hirta* L. (Ca, Fo), *Trichilia pallida* Swartz (Ca, Fo), *Triplaris gardneriana* Weddell. (Ca, Fo), *Tropaeolum majus* L. (Fo, Fl), *Urtiga dioica* L. (Fo), *Vernonia polyanthes* Less (Ca), *Viola sebifera* Aubl. (Ca, Fo), *Vochysia tucanorum* Mart. (Ca), *Xylosma prockia* (Turcz.) Turcz (Ca, Fo), *Zanthoxylum pohlianum* Engl. (Ca, Fo), *Zanthoxylum riedelianum* (Ca, Fo) e *Zingiber officinale* Rosc. (Fo).

As espécies vegetais que deram origem a 340 amostras foram identificadas por comparação com espécimes disponíveis no Herbário

ESAL, localizado na Universidade Federal de Lavras, no ano de 2005. As partes coletadas foram secas, por 48 horas, a 40°C, em estufa com ventilação forçada, moídas e maceradas.

O procedimento de extração foi realizado segundo metodologia de Magallanes et al. (2003). Amostras de cada parte da planta foram submetidas a três extrações. Na primeira, as amostras foram acrescidas de metanol PA e filtradas em algodão após 48 horas, tendo o líquido obtido sido reservado. Ao resíduo foi acrescentado mais metanol e repetiu-se o procedimento de extração descrito anteriormente, por duas vezes. Os líquidos obtidos nas três extrações foram misturados, concentrados em evaporador rotatório até secura e liofilizados. Os extratos vegetais secos foram armazenados em freezer (-10°C). Para a seleção dos extratos vegetais, foram realizados ensaios *in vitro* e *in vivo*.

3.3 Seleção *in vitro* dos extratos vegetais com potencial fungitóxico contra *C. lindemuthianum*

O *screening* das espécies vegetais visando à identificação das plantas potencialmente ativas contra *C. lindemuthianum* foi realizado por meio do teste de crescimento fúngico, utilizando-se duas repetições. Cada repetição foi constituída por uma placa ELISA, com 96 cavidades, sendo as cavidades da mesma preenchidas com 200 µl de meio de cultura M₃. Cada extrato (0,2 mg) foi dissolvido em 500 µl de solução aquosa de Tween 80 a 1% (g/mL) e, a seguir, adicionaram-se à solução resultante 20 µl de suspensão de conídios do isolado LV117 de *C. lindemuthianum*, na concentração de 1,2x10⁶ conídios/mL. Em cada cavidade da placa ELISA foram colocados 20 µl de cada suspensão final (extrato+esporos) e a placa foi armazenada em BOD, à temperatura de 22°C e fotoperíodo de 12 horas.

As testemunhas utilizadas no experimento foram o Tween 80 a 1% (g/mL) e o fungicida comercial Cercobin 700 WP (Iharabras S.A. Indústria Química), na concentração de 0,7 mg/mL. Após 72 horas, foi realizada a avaliação, que consistiu em observar visualmente a ausência ou a presença

do crescimento fúngico. A concentração final de cada extrato no referido teste foi de 0,44 mg/mL (extrato/solvente+suspensão de conídios+meio de cultura M₃). Os extratos vegetais selecionados foram avaliados quanto à inibição do crescimento micelial e da porcentagem de conídios germinados de *C. lindemuthianum*.

Na avaliação do crescimento micelial, o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com duas repetições, em esquema fatorial 4 x 15. Foram avaliados quatro isolados (LV 54, LV 72, LV 80 e LV 117), treze extratos vegetais com atividade fungiotóxica e as duas testemunhas, Tween 80 a 1% (g/mL) e Cercobin 700 WP, na concentração de 0,7 mg/mL. Cada extrato (7 mg) foi dissolvido em 1 mL de Tween 80 a 1% (g/mL), o que resultou em soluções, das quais foram retiradas alíquotas de 500 µL para serem colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo 8 mL de meio de cultura M₃. Em cada uma dessas placas, colocou-se um disco de 9 mm de diâmetro, contendo os micélios do isolado de *C. lindemuthianum*. As placas contendo os extratos e os discos foram incubadas em câmara de crescimento a 22±2°C, com fotoperíodo de 12 horas. Após 20 dias, mediu-se o diâmetro das colônias de cada placa (Paulert, 2005). A concentração final de cada extrato neste teste foi de 0,41 mg/mL (extrato/solvente + meio de cultura M₃).

Na avaliação da porcentagem de conídios germinados, o experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições em duas placas, em esquema fatorial 4 x 15. Foram avaliados quatro isolados (LV 54, LV 72, LV 80 e LV 117), treze extratos vegetais com atividade fungiotóxica e as duas testemunhas (Tween 80 a 1% (g/mL) e Cercobin 700 WP na concentração de 0,7 mg/mL). Amostras de 4 mg dos extratos vegetais foram dissolvidas em 1 mL de Tween 80 a 1% (g/mL). A cada solução obtida foram adicionados 400µL de uma suspensão de conídios de *C. lindemuthianum* na concentração de 1,2x10⁶ conídios/mL. Alíquotas de 500 µL das suspensões resultantes foram espalhadas em placas de Petri de 6 cm de diâmetro contendo 4 mL de meio

de cultura ágar-água (Pereira, 2006). Após 24 horas, avaliaram-se 50 conídios por repetição, em microscópio ótico. Os conídios cujos tubos germinativos apresentaram tamanho maior ou igual ao menor diâmetro do conídio foram considerados germinados. A concentração final de cada extrato neste teste foi de 0,41 mg/mL (extrato/solvente+suspensão de conídios+meio de cultura AA).

3.4 Determinação da concentração inibitória mínima dos extratos vegetais

Amostras de 14 mg dos extratos vegetais foram dissolvidas em 0,4 mL de Tween 80 a 1% (g/mL), tendo, a cada solução obtida, sido adicionados 200 µL de meio líquido M₃S. Colocaram-se 100 µL de cada solução nas cavidades das duas primeiras colunas da placa ELISA e, em seguida, foram acrescentados 100 µL do meio líquido MS₃S aos conteúdos das cavidades da segunda coluna. Transferiram-se 100 µL dos conteúdos das cavidades da segunda coluna para as cavidades da terceira coluna da placa. Adicionaram-se 100 µL do meio M₃S às cavidades da terceira e repetiu-se todo o procedimento até a décima coluna. À suspensão de conídios de 10 mL do isolado LV117 de *C. lindemunthianum*, na concentração de $1,2 \times 10^6$ conídios/mL, foram adicionados 50 mL de meio líquido M₃S. Foram depositados 100 µL dessa mistura em cada uma das cavidades contendo os extratos vegetais e as testemunhas Tween 80 a 1% (g/mL) e Cercobin 700 WP na concentração de 0,7 mg/mL, no lugar da solução de extrato em Tween 80.

As placas permaneceram incubadas em câmara de crescimento com temperatura de 22°C e agitação de 110 rpm, por 72 horas. O experimento foi realizado utilizando-se duas repetições, tendo cada repetição sido constituída por uma placa ELISA. Na avaliação, foram consideradas a presença e a ausência de crescimento fúngico nas dez cavidades da placa ELISA. A concentração inibitória mínima (CIM) foi considerada a menor concentração

que inibiu completamente o crescimento do patógeno, segundo avaliação visual.

3.5 Avaliação *in vivo* dos extratos vegetais com potencial fungitóxico contra *C. lindemuthianum*

A cultivar Pérola de feijoeiro (*P. vulgaris*) foi selecionada para a realização dos testes *in vivo*, devido à reação de suscetibilidade aos isolados LV 54 e LV 117 de *C. lindemuthianum*, que foi determinada em experimento prévio. No plantio, foram utilizados vasos de 3 L, preenchidos com solo sem tratamento de desinfecção e cobertos por substrato Plantmax[®], em casa de vegetação. A irrigação foi realizada conforme as necessidades hídricas da cultura.

3.5.1 Avaliação do efeito local dos extratos vegetais na severidade da antracnose no feijoeiro.

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 15, sendo avaliados dois isolados (LV54 e LV117), os treze extratos selecionados nos testes *in vitro* e as duas testemunhas, Tween 80 a 1% (g/mL) e Cercobin 700 WP na concentração de 0,7 mg/mL. Cada parcela foi constituída de um vaso contendo três plantas.

Os extratos vegetais foram dissolvidos em Tween 80 a 1% (g/mL) e agitados até a obtenção de uma solução homogênea, nas concentrações determinadas pela seguinte equação:

$$\text{Concentração} = \frac{\text{CIM (extrato)} \times \text{recomendação do Cercobin}}{\text{CIM (Cercobin 700)}}$$

Com um pincel da marca Pinctore Tigre n° 24, espalharam-se 4 mL das soluções de cada extrato nas folhas das plantas de feijoeiro que apresentavam o primeiro trifólio desenvolvido (estádio fenológico V3). Após

5 horas, sem irrigação, quando as folhas já estavam secas, procedeu-se à inoculação do isolado de *C. lindemuthianum*, na concentração de $1,2 \times 10^6$ conídios/mL. Utilizaram-se cerca de 4 mL por planta, que foram borrifados na parte aérea até o ponto de escorrimento. Depois de inoculadas, as plantas foram mantidas em uma câmara úmida, a 22°C, com fotoperíodo de 12 horas e 98% de umidade relativa, por 72 horas. Posteriormente, os vasos foram mantidos em casa de vegetação e, aos 5 e aos 12 dias após a inoculação, procedeu-se a avaliação da severidade da antracnose, por meio da escala de notas proposta por Rava et al. (1993), que é apresentada na Tabela 2.

3.5.3 Avaliação do efeito sistêmico dos extratos na severidade da antracnose no feijoeiro

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC), com quatro repetições, em esquema fatorial 2 x 15, sendo avaliados dois isolados (LV54 e LV117), os treze extratos selecionados nos testes *in vitro* e duas testemunhas (Tween 80 a 1% (g/mL) e Cercobin 700 WP na concentração de 0,7 mg/mL). Cada parcela foi constituída de um vaso contendo três plantas.

Os extratos vegetais foram dissolvidos em Tween 80 a 1% (g/mL) e agitados até a obtenção de soluções homogêneas, nas concentrações descritas anteriormente (item 3.5.2). Com um pincel da marca Pinctore Tigre n° 24, espalharam-se 4 mL das soluções de cada extrato nas folhas das plantas de feijoeiro que apresentavam o primeiro trifólio desenvolvido (estádio fenológico V3) e se mantiveram as plantas sem irrigação por 5 horas, para não ocorrer a lavagem dos extratos. Após sete dias, procedeu-se a inoculação com a suspensão de conídios dos isolados de *C. lindemuthianum*, na concentração de $1,2 \times 10^6$ conídios/mL. Para tanto, borrifaram-se cerca de 4 mL na parte aérea de cada planta até o ponto de escorrimento. Depois de inoculadas, as plantas foram mantidas em câmara úmida a 22°C, com fotoperíodo de 12 horas e 98% de umidade relativa, por 72 horas. Posteriormente, os vasos foram mantidos em casa de vegetação e,

aos 5 e aos 12 dias após a inoculação, procedeu-se a avaliação da severidade da antracnose por meio da escala de notas proposta por Rava et al. (1993), apresentada na Tabela 2.

TABELA 2 Escala de notas de severidade da antracnose proposta por Rava et al. (1993).

Nota	Descrição dos sintomas
1	Ausência de sintomas.
2	Até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptível somente na face inferior da folha.
3	Maior frequência dos sintomas foliares descritos na face superior, até 3% das nervuras afetadas.
4	Até 1% das nervuras apresentando manchas necróticas, perceptíveis em ambas as faces da folha.
5	Maior frequência dos sintomas foliares descritos na face superior da folha, até 3% das nervuras atacadas.
6	Manchas necróticas nas nervuras, perceptível em ambas as faces da folha, presença de algumas lesões nos talos, ramos e pecíolos.
7	Manchas necróticas na maioria das nervuras e grande parte do tecido do mesófilo adjacente rompendo-se. Presença abundante de lesões nos talos, ramos e pecíolos.
8	Manchas necróticas quase na totalidade das nervuras, ocasionando rompimento, desfolha e redução do crescimento das plantas. Lesões muito abundantes nos talos, ramos e pecíolos.
9	Maioria das plantas mortas.

3.6 Análise dos dados

Os dados obtidos nos testes *in vitro* e *in vivo* foram submetidos à análise de variância (ANAVA) e compararam-se as médias pelo teste de

Scott-Knott, a 5% de significância. Para tanto, empregou-se o programa estatístico MSTAT (Microcomputer..., 1991).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Ensaios *in vitro*

4.1.1 Seleção de extratos com potencial fungitóxico contra *C. lindemuthianum*

No *screening* para a seleção dos extratos vegetais com efeito fungitóxico, das 340 amostras testadas, 13 proporcionaram a inibição do crescimento fúngico. Os extratos vegetais que demonstraram potencial no controle da antracnose são apresentados na Tabela 3.

TABELA 3 Extratos vegetais que apresentaram atividade *in vitro* contra o fungo *Colletotrichum lindemuthianum* no *screening* inicial.

Nome científico	Família	Parte coletada
<i>Astronium fraxinifolium</i>	Anacardiaceae	Folha
<i>Inga marginata</i>	Leguminosae	Folha
<i>Malva sylvestris</i>	Malvaceae	Folha
<i>Matayba eleagnoides</i>	Sapindaceae	Folha
<i>Miconia argyrophylla</i>	Melastomataceae	Folha
<i>Myrcia fallax</i>	Myrtaceae	Folha
<i>Ocimum gratissimum</i>	Lamiaceae	Folha
<i>Origanum vulgare</i>	Lamiaceae	Folha
<i>Rollinia emarginata</i>	Annonaceae	Folha
<i>Siparuna arianaeae</i>	Monimiaceae	Folha
<i>Styrax pohlii</i>	Styracaceae	Folha
<i>Tabebuia serratifolia</i>	Bignoneaceae	Casca
<i>Trichilia pallida</i>	Meliaceae	Folha

Na literatura, não foi encontrada qualquer descrição de atividade antifúngica para as espécies *A. lhotskiana*, *A. polycephalla*, *B. meridionalis*, *C. iguanaea*, *C. floribundus*, *D. villosa*, *D. hispida*, *E. hyemalis*, *E. tirucalli*, *G. lindeniana*, *H. silvianii*, *J. pectoralis*, *L. guillemianus*, *M.*

cinnamomifolia, *M. charantia*, *N. catarica*, *P. caimito*, *P. granatum*, *T. cordata*, *T. majus* e *V. polyanthes*. Esta ausência de dados na literatura foi coerente com os resultados obtidos neste trabalho, uma vez que nenhum dos extratos de tais plantas apresentou atividade contra *C. lindemuthianum*.

Observou-se que os extratos de algumas plantas para as quais havia relatos de propriedades antifúngicas não propiciaram a inibição do crescimento de *C. lindemuthianum* no presente trabalho. Entre eles, se destaca aquele proveniente das folhas de *R. graveolens*, que apresentou atividade contra espécies do gênero *Colletotrichum* (Oliva et al., 2003) e o extrato de *M. piperita*, que reduziu o crescimento micelial de *C. lindemuthianum*, causando degeneração das hifas e o extravasamento do citoplasma celular (Zambonelli et al., 1996).

Outros exemplos são os extratos de *A. colubrina*, *A. annua* e *R. graveolens*, que se mostraram ativos contra *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl f. sp. *citri*, agente causal da mancha-marrom do tangor murcote (Carvalho, 2008). Há também o extrato de *Z. officinale*, que tem atividade descrita contra *Helminthosporium* sp (Rodrigues et al., 2006). Ambos os extratos não demonstraram potencial para o controle da antracnose do feijoeiro. Há de se destacar que essas diferenças nos resultados podem ter sido causadas por inúmeras razões, dentre as quais vale mencionar o tipo de solvente extrator e o método de extração utilizado, que podem afetar quantitativa e qualitativamente os metabólitos obtidos a partir dos extratos vegetais.

Para as espécies *A. fraxinifolium*, *M. eleagnoides*, *M. fallax*, *R. emarginata*, *S. arianae* e *S. pohlii*, não foram encontrados relatos de atividade antifúngica de seus extratos vegetais na literatura. Entretanto, estes extratos se mostraram ativos *in vitro* contra *C. lindemuthianum*. Vale mencionar, ainda, que, apesar de os óleos essenciais das espécies *A. fraxinifolium* e *S. pohlii* terem apresentado atividade antifúngica em experimentos relatados na literatura (Pauletti et al., 2000; Maia et al., 2002), os extratos correspondentes poderiam ter sido inativos, pois as composições dos extratos e dos óleos essenciais são bem distintas (Pessoa, 2001).

Confirmando a atividade contra fitopatógenos já encontrada na literatura, destacam-se os extratos de *M. sylvestris*, *I. marginata*, *O. gratissimum* e *Origanum vulgare*. Para os extratos *M. argyrophylla* e *T. pallida*, embora não haja relatos de atividade antifúngica na espécie, outras espécies desses gêneros possuem relatos de efeito no controle *in vitro* de fitopatógenos (Tabela 4).

TABELA 4 Atividade antifúngica descrita na literatura dos extratos vegetais ativos.

Nome científico	Referência
<i>Inga marginata</i>	Alvarez et al. (1998)
<i>Malva sylvestris</i>	Magro Ana et al. (2006)
<i>Miconia rubiginosa</i>	Rodrigues et al. (2008)
<i>Ocimum gratissimum</i>	Awuah (1994)
<i>Origanum vulgare</i>	Adam et al. (1998)
<i>Tabebuia serratifolia</i>	Velasquez et al. (2004)
<i>Trichilia heudelotti</i>	Aladesanmi & Odediran (2000)

4.1.2 Efeito dos extratos vegetais no crescimento micelial de *C. lindemuthianum*

Na ANAVA para o crescimento micelial, todas as fontes de variação foram significativas (Tabela 1A). Como houve alteração na classificação dos extratos para os diferentes isolados, foi realizado o teste de Scott-Knott, a partir das médias do crescimento micelial de cada isolado (Tabela 5). O coeficiente de variação (CV) foi 1,66%, inferior ao apresentado por Abreu (2005).

O crescimento micelial da testemunha Tween 80 variou de 8,15 cm a 8,65 cm entre os isolados avaliados, demonstrando que os valores foram de magnitude semelhante, 20 dias após a inoculação. O fungicida comercial Cercobin 700 inibiu o crescimento micelial em cerca de 65% em relação à

testemunha, exceto para o isolado LV 80, cuja inibição foi cerca de 50% em relação à testemunha Tween 80 (Tabela 5).

TABELA 5 Efeito dos extratos vegetais no crescimento micelial (CMI), aos 20 dias de cultivo, dos quatro isolados de *Colletotrichum lindemuthianum*.

Tratamentos	CMI (cm)			
	LV54	LV72	LV80	LV117
<i>Astronium fraxinifolium</i>	7,50 G*	8,00 I	6,90 E	7,45 G
<i>Inga marginata</i>	6,75 E	7,05 F	6,40 D	6,85 E
<i>Malva sylvestris</i>	6,60 E	6,85 E	6,45 D	6,60 E
<i>Matayba eleagnoides</i>	7,60 G	7,75 G	7,05 F	7,75 H
<i>Miconia argyrophylla</i>	6,15 C	6,00 C	6,00 C	6,10 D
<i>Myrcia fallax</i>	5,55 B	6,35 D	5,35 B	5,00 B
<i>Ocimum gratissimum</i>	6,35 D	6,40 D	6,25 D	6,15 D
<i>Origanum vulgare</i>	5,90 C	6,20 C	5,85 C	5,50 C
<i>Rollinia emarginata</i>	7,15 F	7,60 F	6,40 D	7,20 F
<i>Siparuna arianaeae</i>	6,00 C	5,85 B	5,50 B	5,40 C
<i>Styrax pohlii</i>	6,05 C	6,35 D	5,60 B	5,65 C
<i>Tabebuia serratifolia</i>	7,10 F	7,15 F	6,60 D	6,70 E
<i>Trichilia pallida</i>	7,75 G	7,10 F	7,15 F	7,55 G
Cercobin 700	3,00 A	3,00 A	4,00 A	3,00 A
Tween 80 a 1%	8,50 H	8,65 J	8,15 G	8,40 I

*Médias seguidas da mesma letra em cada coluna pertencem ao mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Todos os extratos vegetais avaliados diferiram estatisticamente da testemunha, tendo sido considerados os melhores aqueles cuja porcentagem de inibição do crescimento micelial foi superior a 25% em relação à testemunha Tween 80 nos quatro isolados. Esse critério foi adotado, visto que, para o controle do patógeno, é ideal que o extrato seja ativo contra o maior número de raças possível, para que sua ação seja efetiva no controle

da doença. Dessa forma, os extratos de *M. argyrophylla*, *M. fallax*, *O. vulgare*, *S. arianae* e *S. pohlii* foram considerados destaques na inibição do crescimento micelial (Tabela 5). O valor empregado como critério no presente trabalho é superior ao utilizado por Brand et al. (2008) que, ao testarem o extrato aquoso de guaco (*Mikania glomerata* Spreng.) contra *C. lindemuthianum*, obtiveram uma inibição do crescimento micelial de 15,14%, após 18 dias de crescimento, na concentração de 3mg/mL.

O extrato de *M. fallax* se destacou quando testado contra o isolado LV117, apresentando inibição superior a 40%. Tegegne & Pretorius (2007) testaram a ação inibitória de extratos vegetais metanólicos de três espécies de plantas contra *R. solani*, na concentração de 1 mg/mL. Estas apresentaram inibição do crescimento micelial do patógeno de 30%, 10% e 15%, utilizando, extratos de *Dolichos kilimandscharicus* Harms ex Taub., *Phytolacca dodecandra* L'Herit e *Maerua subcordata* Shrub, respectivamente.

Cunico et al. (2002) constataram a presença de correlação entre a concentração utilizada no teste e a porcentagem de inibição do crescimento micelial. No estudo, houve inibição do crescimento micelial de *F. oxysporum* de 26%, 22% e 10%, em relação à testemunha, quando se empregou o extrato etanólico de *M. ilicifolia* nas concentrações de 0,6 mg/mL, 0,4 mg/mL e 0,2 mg/mL, respectivamente. No presente estudo, a concentração utilizada foi de 0,41 mg/mL, indicando que os extratos destacados anteriormente são promissores no controle do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*.

4.1.3 Efeito dos extratos vegetais na porcentagem de germinação de conídios de *C. lindemuthianum*

Na análise de variância (ANAVA) para a porcentagem de germinação de conídios, todas as fontes de variação foram significativas, exceto a interação isolados x extratos (Tabela 1A). Assim, o teste de média foi realizado por meio da avaliação dos extratos, independente do isolado

(Tabela 6). O coeficiente de variação (CV) foi de 20%, que é um valor próximo ao apresentado por Abreu (2005).

A porcentagem de germinação da testemunha Tween 80 foi alta (82%), sendo superior à encontrada por Paulert (2005), que obteve porcentagem de germinação de 70% para a testemunha. O fungicida comercial Cercobin 700 inibiu a germinação de conídios em 95%, em relação à testemunha, demonstrando, novamente, que, em condições de laboratório, o fungicida tem forte ação inibitória (Tabela 6).

Todos os extratos vegetais avaliados diferiram estatisticamente da testemunha. Os extratos de *M. argyrophylla*, *M. eleagnoides* e *O. gratissimum* apresentaram inibição na porcentagem de germinação superior a 70% em relação à testemunha (Tabela 6). Estas três espécies podem ser consideradas destaque no controle da germinação de conídios de *C. lindemuthianum*, visto que Ribera et al. (2008), realizando testes *in vitro* contra o fungo *Botrytis cinerea* Pers., obtiveram inibição da germinação de cerca de 60% em relação à testemunha, quando utilizaram extratos aquosos e etanólicos de *Quillaja saponaria* Mol. (Quillay).

No presente estudo, utilizando-se a concentração de 0,41mg/mL para os extratos, a maior inibição foi aquela apresentada pelo extrato de *M. argyrophylla* (77%). Itako et al. (2008), testando o extrato aquoso de *Rosmarinus officinalis* L. nas concentrações de 0,1 mg/mL, 0,2 mg/mL e 0,4 mg/mL, observaram inibição na germinação de esporos de *A. solani* em 29%, 40% e 60% em relação à testemunha, respectivamente. Outros trabalhos também corroboram para a afirmação de que a concentração empregada influencia na porcentagem de inibição de conídios germinados (Fiori et al., 2000).

O destaque principal nos testes *in vitro* foi o extrato de *M. argyrophylla*, que apresentou a mais consistente atividade inibitória, proporcionando bons resultados nos testes de germinação de esporos e crescimento micelial.

TABELA 6 Efeito dos extratos vegetais na porcentagem de conídios germinados (PCG) para os quatro isolados avaliados de *Colletotrichum lindemuthianum*.

Tratamentos	PCG (%)
Cercobin 700	4,12 A*
<i>Miconia argyrophylla</i>	18,88 B
<i>Matayba eleagnoides</i>	19,63 B
<i>Ocimum gratissimum</i>	19,75 B
<i>Malva sylvestris</i>	24,13 C
<i>Astronium fraxinifolium</i>	24,13 C
<i>Inga marginata</i>	25,50 C
<i>Myrcia fallax</i>	26,25 C
<i>Origanum vulgare</i>	26,38 C
<i>Siparuna arianae</i>	27,75 C
<i>Trichilia pallida</i>	28,00 C
<i>Tabebuia serratifolia</i>	29,25 D
<i>Rollinia emarginata</i>	29,38 D
<i>Styrax pohlii</i>	36,50 E
Tween 80 a 1%	82,38 F

*Médias seguidas da mesma letra pertencem ao mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

4.1.4 Determinação da concentração inibitória mínima dos extratos vegetais

Na determinação da concentração inibitória mínima (CIM), dois grupos de extratos foram separados. O primeiro grupo era formado pelos extratos de *A. fraxinifolium*, *M. elaeagnoides*, *M. argyrophylla*, *O. gratissimum*, *O. vulgare*, *R. emarginata*, *S. pohlii* e *T. pallida*, que apresentaram valor de 1,45 mg/mL para a CIM. O segundo grupo de plantas, que continha as demais espécies (*I. marginata*, *M. sylvestris*, *M. fallax*, *S. arianae* e *T. serratifolia*), apresentou valor de CIM igual a 0,72 mg/mL. As

plantas deste segundo grupo apresentaram, portanto, CIM que representava metade do valor encontrado para o primeiro grupo.

A magnitude dos valores de CIM encontrada no presente estudo está de acordo com os valores encontrados na literatura. Ninõ et al. (2006), testando a atividade de extratos vegetais no controle *in vitro* de *F. solani*, verificaram que a concentração inibitória mínima para o extrato metanólico de *Schistocarpa sinforosi* Cuatrec era de 1,25 mg/mL.

O CIM do fungicida comercial também foi determinado, o que resultou no valor de 0,0036 mg/mL. A discrepância dos valores de CIM do fungicida para CIM dos extratos vegetais pode ser atribuída ao fato de o Cercobin 700 possuir 70% do produto ativo tiofanato-metílico na sua composição (Rosati et al., 2008). Pode-se inferir que, qualquer que seja o ingrediente ativo presente na planta, sua concentração será bem menor que a observada para o ingrediente ativo do fungicida comercial.

4.2 Ensaio *in vivo*

De acordo com os resultados obtidos nos testes *in vitro* para a determinação da concentração inibitória mínima, foram calculadas as concentrações dos extratos vegetais para os experimentos *in vivo*. Considerando-se que a recomendação do Cercobin 700 para o tratamento do feijoeiro com antracnose é de 0,7 mg/mL, para o primeiro grupo de plantas, os extratos foram aplicados nos testes *in vivo*, na concentração de 283,93 mg/mL e, para o segundo grupo, na concentração de 141,97 mg/mL.

4.2.1 Avaliação do efeito local dos extratos vegetais na severidade da antracnose do feijoeiro

Na análise de variância para o efeito local dos extratos vegetais avaliados, as fontes de variação extratos e épocas de avaliação e a interação extratos x épocas foram significativas (Tabela 2A). Entretanto, como o ideal para a seleção *in vivo* do extrato com uma maior acurácia é a avaliação nas duas épocas (5 e 12 dai), realizou-se o teste de média, independente da época

de avaliação e do isolado. O valor do coeficiente de variação foi de baixa magnitude (4,44%). Abreu (2005), testando o efeito local de extratos de plantas aquáticas e algas marinhas no controle da antracnose do feijoeiro, obteve CVs variando de 7% a 17%. Na Tabela 7 são apresentadas as médias das notas de severidade da antracnose.

O fungicida reduziu a severidade da doença em 52%, em relação à testemunha (Tabela 7), o que está próximo dos valores observados para os extratos. A princípio, tal semelhança parece contrastar com as grandes diferenças observadas nos testes *in vitro*. No entanto, é necessário ter em mente que, nos testes em casa de vegetação, as concentrações utilizadas foram ajustadas pelo cálculo da concentração inibitória mínima de cada espécie.

Os extratos de *M. eleagnoides* e *T. pallida*, que foram ativos contra *C. lindemuthianum* nos testes *in vitro*, não diferiram estatisticamente da testemunha Tween 80 (Tabela 7). Assim, para estas duas espécies, os testes *in vitro* e *in vivo* apresentaram resultados contrastantes. A espécie *M. eleagnoides* apresentou grande potencial durante o teste de inibição da germinação de conídios. Entretanto, ficou evidente, durante as avaliações, que esta espécie produz alguma substância que prejudica o crescimento da planta e favorece o desenvolvimento da doença, inviabilizando o seu uso. Paulert (2005), testando extratos metanólicos de *Ulva fasciata* Delile no controle da antracnose do feijoeiro, não observou nenhum efeito local do extrato sobre a planta, embora o mesmo tivesse apresentado inibição de 55% do crescimento micelial de *C. lindemuthianum*.

Os extratos de *M. argyrophylla* e *O. vulgare* apresentaram as maiores reduções na severidade da doença, que foram, respectivamente, de 42% e 39% em relação à testemunha Tween 80 (Tabela 7). Estes resultados estão de acordo com aqueles encontrados no teste de germinação de conídios, visto que ambos os extratos tiveram alta porcentagem de inibição de conídios germinados.

TABELA 7 Efeito local e sistêmico dos extratos vegetais na severidade da antracnose em plantas de feijoeiro, para os dois isolados avaliados de *Colletotrichum lindemuthianum*, segundo a escala de notas proposta por Rava et al. (1993).

Tratamentos	Efeito local	Efeito sistêmico
<i>Astronium fraxinifolium</i>	6,14 J*	4,68 F
<i>Inga marginata</i>	4,45 D	3,56 D
<i>Malva sylvestris</i>	5,49 H	4,06 E
<i>Matayba eleagnoides</i>	6,72 L	5,74 H
<i>Miconia argyrophylla</i>	3,91 B	3,47 D
<i>Myrcia fallax</i>	5,00 F	2,48 B
<i>Ocimum gratissimum</i>	4,64 E	3,52 D
<i>Origanum vulgare</i>	4,10 C	2,85 C
<i>Rollinia emarginata</i>	5,12 F	4,74 F
<i>Siparuna arianeae</i>	5,27 G	3,99 E
<i>Styrax pohlii</i>	5,77 H	5,27 G
<i>Tabebuia serratifolia</i>	5,41 H	6,27 J
<i>Trichilia pallida</i>	6,62 L	6,00 I
Cercobin 700	3,20 A	2,02 A
Tween 80 a 1%	6,72 L	6,33 J

*Médias seguidas da mesma letra em cada coluna pertencem ao mesmo grupo, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Harish et al. (2008) também verificaram relação entre os resultados *in vitro* e *in vivo*, avaliando o efeito local de extratos de *Nerium oleander* L. e *Pithecolobium dulce* Benth, espécies vegetais que, em testes *in vitro*, haviam se destacado dentre as 50 espécies testadas contra *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker. O tratamento das plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) com os extratos na concentração de 10% foi realizado 24 horas após a inoculação do fungo, em casa de vegetação. O extrato de *N. oleander* reduziu a intensidade da doença em 52%, enquanto o extrato de *P. Dulce*

propiciou uma redução de 26%, quando comparado com a testemunha. Em condições de campo, a porcentagem de inibição da doença se manteve constante para ambos os tratamentos, indicando que os resultados obtidos em casa de vegetação podem ser extrapolados para plantios em condições de campo.

4.2.2 Avaliação do efeito sistêmico dos extratos vegetais na severidade da antracnose do feijoeiro

Na análise de variância para o efeito sistêmico dos extratos vegetais avaliados, as fontes de variação extratos, isolados, épocas de avaliação e interação extratos x épocas foram significativas. Entretanto, como o ideal para a seleção *in vivo* do extrato com uma maior acurácia é a avaliação nas duas épocas (5 e 12 dai), realizou-se o teste de média, independente da época de avaliação e do isolado (Tabela 7). O valor do coeficiente de variação foi de baixa magnitude (6,06%). Abreu (2005), testando o efeito sistêmico de extratos de plantas aquáticas e algas marinhas no controle da antracnose do feijoeiro, obteve CVs variando de 14% a 18%.

O fungicida reduziu a severidade da doença em 68% em relação à testemunha (Tabela 7). Essa redução maior da severidade da doença em relação ao teste de efeito local pode ser explicada pelo fato do Cercobin 700 ser um fungicida sistêmico (Rosati et al., 2008). Para a testemunha Tween 80, a nota de severidade da doença foi cerca de 6% menor em relação ao experimento de efeito local. Este fato pode ser explicado por diferenças ambientais que podem ter ocorrido durante a condução dos dois experimentos, que foram realizados em épocas distintas.

De acordo com a escala de notas para avaliação de resistência e suscetibilidade, as plantas que recebem notas abaixo de quatro são consideradas resistentes à antracnose do feijoeiro (Silva et al., 2007). Portanto, os extratos de *I. marginata*, *M. argyrophylla*, *M. fallax*, *O. gratissimum*, *O. vulgare* e *S. arianae* apresentaram notas consideradas adequadas para o controle da doença.

I. marginata, espécie arbórea nativa da mata atlântica, se mostrou eficiente no controle sistêmico da antracnose. No entanto, seu desempenho nos testes *in vitro* e no teste de efeito local foi sempre intermediário. Essa ausência de associação entre os testes *in vitro* e *in vivo*, para alguns extratos, demonstra que os experimentos em laboratório são importantes para a realização de uma pré-seleção de extratos vegetais com propriedades fungitóxicas. Entretanto, os testes em casa de vegetação ou em condições de campo são essenciais para verificar a validade dos efeitos detectados nas análises *in vitro* e para uma avaliação mais consistente da atividade antifúngica dos extratos.

M. fallax, espécie com atividade frente a células cancerígenas descrita na literatura, se destacou no controle da antracnose. A aplicação de seu extrato proporcionou redução da severidade da doença de 61% em relação à testemunha, o que consiste em valor próximo ao observado para o fungicida Cercobin 700. Este extrato não se destacou no experimento de efeito local, ressaltando a importância de se testar o efeito direto (local) e a ativação de reações de defesa da planta (efeito sistêmico), para a compreensão dos modos de ação envolvidos no controle da doença pelo extrato vegetal.

Os extratos de *M. argyrophylla* e *O. vulgare* mantiveram bons níveis de controle da doença, que foram de 45% e 55%, respectivamente, em relação à testemunha. Nota-se que o extrato de *O. vulgare*, além do efeito local pronunciado, destacou-se no efeito sistêmico. Pode-se sugerir que, nesse caso, ocorram ambos os modos de ação no controle da doença, pois, para que haja a indução de resistência, é necessário um intervalo de tempo entre a aplicação do extrato e a inoculação.

O. gratissimum e *S. arianae* apresentaram melhor desempenho em relação ao efeito local de, respectivamente, 44% e 37% em relação à testemunha. Além dos modos de ação envolvidos, as diferenças nos resultados entre os testes podem ter ocorrido devido à influência de fatores ambientais e de suas interações com as plantas do feijoeiro.

A avaliação do efeito sistêmico foi realizada em algumas oportunidades (Stadnik et al., 2003; Santos et al., 2007; Itako et al., 2008). Nestes trabalhos, os extratos vegetais de espécies diferentes das avaliadas no presente trabalho apresentaram redução de 30% a 50% na severidade da ferrugem e da cercosporiose em café, da pinta-preta no tomateiro e do oídio em pepino.

No presente trabalho, foram estimadas as correlações de Spearman entre a classificação dos extratos vegetais no controle de *C.lindemuthianum* e da antracnose, nos testes *in vitro* e *in vivo* (Tabela 8).

TABELA 8 Correlação de Spearman entre a porcentagem de conídios germinados (PCG), o crescimento micelial (CMI), o efeito local (EL) e o efeito sistêmico (ES).

PCG	CMI	EL	ES
PCG	-0,0464	0,1857	0,3107
CMI		0,3714	0,5179
EL			0,3286

Observa-se que a maior correlação foi entre a avaliação do crescimento micelial e o efeito sistêmico. Esta associação significativa pode ser explicada pelo fato de que, para que o fungo se desenvolva na planta, ou seja, realize a colonização dos tecidos, são necessários o crescimento e o desenvolvimento de suas hifas primárias e secundárias. No entanto, as demais correlações estimadas foram de baixa magnitude, ou seja, não significativas. De modo geral, não houve associação entre os resultados obtidos nas avaliações *in vitro* e *in vivo*. Portanto, estes resultados indicam a necessidade dos testes *in vitro* e *in vivo* para a seleção de extratos promissores no controle da antracnose do feijoeiro. Correlações de baixa magnitude também foram obtidas por Abreu (2005) no controle da antracnose do feijoeiro, por meio de extratos vegetais e de algas.

Com base nos resultados obtidos nos testes *in vitro* e, principalmente, *in vivo*, foram identificadas espécies vegetais promissoras no controle da antracnose do feijoeiro. Portanto, esforços devem ser despendidos na identificação dos princípios ativos nestas espécies.

5 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos nos testes *in vitro* e *in vivo*, os extratos das espécies mais promissoras para o desenvolvimento de novos produtos para o controle da antracnose do feijoeiro são: *Inga marginata*, *Miconia argyrophylla*, *Myrcia fallax*, *Malva sylvestris*, *Ocimum gratissimum*, *Origanum vulgare* e *Siparuna arianaeae*.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABREU, G.F. **Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*) do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.)**. 2005. 80p. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- ABREU, G.F.; TALAMINI, V.; STADINIK, M.J. Bioprospecção de macroalgas marinhas e plantas aquáticas para o controle da antracnose do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v.34, n.1, p.78-82, 2008.
- ADAM, K.; ADAM, K.; SIVROPOULOU, A.; KOKKINI, S.; LANARAS, T.; ARSENAKIS, M. Antifungal activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* essential oils against human pathogenic fungi. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.46, n.5, p.1739-1745, May 1998.
- ALADESANMI, A.J.; ODEDIRAN, S.A. Antimicrobial activity of *Trichilia heudelotii* leaves. **Fitoterapia**, Milano, v.71, n.2, p.179-182, 2000.
- ALSTRÖM, S. Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere Pseudomonads. **Journal of General and Applied Microbiology**, Tokyo, v.37, n.6, p.495-501, 1991.
- ALVAREZ, J.C.; SERRANO, R.P.; OSPINA, L.F.; TORRES, L.A.A. Biological activity of saponins from the bark of *Inga marginata* Willd. **Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas**, Bogota, v.27, n.2, p.17-19, 1998.
- AMARAL, D.R. **Indução de em cafeeiro contra *Cercospora coffeicola* por eliciadores abióticos e extratos vegetais**. 2005. 96p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- AMARAL, M.F.Z.J.; BARA, M.T.F. Avaliação da atividade antifúngica de extratos de plantas sobre o crescimento de fitopatógenos. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v.2, n.2, p.5-8, 2005. Suplemento.
- AWUAH, R.T. In-vivo use of extracts from *Ocimum gratissimum* and *Cymbopogon citratus* against *Phytophthora palmivora* causing blackpod disease of cocoa. **Annals of Applied Biology**, Warwick, v.124, n.1, p.173-178, 1994.
- AZEVEDO, L.A.S. **Fungicidas protetores: fundamentos para o uso racional**. Campinas: Emopi, 2003. 319p.

- BAJPAI, V.K.; SHUKLA, S.; KANG, S.C. Chemical composition and antifungal activity of essential oil and various extract of *Silene armeria* L. **Bioresource Technology**, Essex, v.99, n.18, p.8903-8908, 2008.
- 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: avaliação *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.31, n.4, p.401-404, 2006.
- BARRUS, M.F. Variation of varieties of beans in their susceptibility to anthracnose. **Phytopathology**, Saint Paul, v.1, n.1, p.190-199, 1911.
- BAUTISTA-BAÑOS, S.; HERNANDEZ-LOPEZA, M.; BOSQUEZ-MOLINA, E.; WILSON, C.L. Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. **Crop Protection**, Guildford, v.22, n.9, p.1087-1092, 2003.
- BIANCHINI, A.; MARINGONI, A.C.; CARNEIRO, S.M.T.P. Doenças do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). In: KIMAT, H. (Ed.). **Manual de fitopatologia**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p.333-354.
- BONETT, L.P.; SCHEWE, I.; SILVA, L.I. Variabilidade de *Colletotrichum lindemuthianum* em feijoeiro comum no Oeste do Estado do Paraná. **Scienti Agraria**, Curitiba, v.9, n.2, p.207-210, 2008.
- BRAND, S.C.; BLUME, E.; SANTOS, R.F.; FINGER, G.; MÜLLER, J. Extrato de guaco no crescimento micelial de *Colletotrichum lindemuthianum*. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 17.; ENCONTRO DE POS-GRADUAÇÃO, 10., 2008, Pelotas, RS. **Anais...** Pelotas: UFPel, 2008. 1 CD-ROM.
- CARBONELL, S.A.M.; ITO, M.F.; POMPEU, A.S.; FRANCISCO, F.G.; RAVAGANINI, S.; ALMEIDA, A.L.L. Raças fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* e reação de cultivares e linhagens de feijoeiro no Estado de São Paulo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.24, n.1, p.60-65, 1999.
- CARVALHO, D.D.C. **Conidial production and reaction of *Alternaria alternata* f. sp. *citri* to plant extracts**. 2008. 58p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CASTRO, R.A.; MENDES-COSTA, M.C.; CASTRO, A.H.F.; FRAGAZ, A.C.; GUIMARÃES, I.; NEVES, N.G. Atividade fungitóxica do óleo fixo e de extratos de mamona em *Colletotrichum lindemuthianum*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 2., 2006, Aracaju. **Resumos...** Aracaju, 2006. p.121-122.

CELOTO, M.I.B.; PAPA, M.F.S.; SACRAMENTO, L.V.S.; CELOTO, F.J. Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum gloeosporioides*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.30, n.1, p.1-5, 2008.

CHAVES, G. La antracnosis. In: SCHWARTZ, H.F.; GÁLVEZ, G.E. **Problemas de producción del frijol**: enfermedades, insectos, limitaciones edáficas y climáticas de *Phaseolus vulgaris*. Cali: CIAT, 1980. p.37-53.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Conjuntura da agropecuária**: prospecção para a safra 2007/2008. 2008. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 6 jan. 2009.

CONNELL, R. o'; PERFECT, S.; HUGHES, B.; CARZANIGA, R.; BAILEY, J.; GREEN, J. Dissecting the cell biology of *Colletotrichum* infection process. In: PRUSKY, D.; FREEMAN, S.; DICKMAN, M.B. **Colletotrichum**: host specificity, pathology and host-pathogen interaction. Saint Paul: APS, 2000. p.57-77.

CRUZ, M.E.S.; SCHAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Efeito do óleo essencial de *Cymbopogon citratus* (capim limão) no crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v.23, n.1, p.63-65, 1997.

CUNICO, M.M.; CIRIO, G.M.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D.; MONTRUCCHIO, D.P.; AUER, C.G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Contribuição ao estudo da atividade antifúngica de *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss, Celastraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v.12, n.2, p.69-73, 2002.

DAAYF, F.; SCHMITT, A.; BELANGER, R.R. The effects of plant extract of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew development and leaf physiology of long English cucumber. **Plant Disease**, Quebec, v.79, n.6, p.577-580, 1995.

DALLA PRIA, M.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A. Quantificação dos componentes monocíclicos da antracnose do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.28, n.4, p.401-407, 2003.

DIAS, J.F.G.; VIRTUOSO, S.; DAYET, A.; CUNICO, M.M.; MIGUEL, O.G.; AUER, C.G.; GRIGOLETTI-JÚNIOR, A.G.; OLIVEIRA, A.B.; FERRONATO, M.L. Atividade antibacteriana e antifúngica de extratos etanólicos de *Aster lanceolatus* Willd., Asteraceae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, São Paulo, v.16, n.1, p.83-87, jan./mar. 2006.

DIKBAS, N.; KOTAN, R.; DADASOGLU, F.; SAHIN, F. Control of *Aspergillus flavus* with essential oil and methanol extract of *Satureja hortensis*. **International Journal of Food Microbiology**, Amsterdam, v.124, n.2, p.179-182, 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Sistemas de produção**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em: 3 jan. 2009.

ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. **The protection of human health and the environment**. Washington, DC, 2004. Disponível em: <<http://www.epa.gov>>. Acesso em: 25 jan. 2009.

FERNANDES, M.C.A. Emprego de métodos alternativos de controle de pragas e doenças na olericultura. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE PRODUÇÃO DE PLANTAS MEDICINAIS, AROMÁTICAS E CONDIMENTARES, 18., 2000, São Pedro, SP. **Anais...** Brasília, DF: SOB/FCAP-UNESP, 2000. p.110-112. Suplemento.

FIORI, A.C.G.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; VIDA, J.B.; SCAPIM, C.A.; CRUZ, M.E.S.; PASCHOLATI, F. Antifungal activity of leaf extracts and essential oils of some medicinal plants against *Didymella bryoniae*. **Journal of Phytopathology**, Saint Paul, v.148, n.8, p.483-487, 2000.

FLORIDO, F.G.; TERRONE, C.C.; MENEGHIN, S.P. Avaliação da atividade antifúngica de extratos vegetais para o controle de doenças do sorgo e da cana-de-açúcar. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 4., 2008, São Carlos. **Anais...** São Carlos: UFSCar, 2008. p.29. Suplemento.

FORTES, N.L.; SILVA, J.C.; CASTRO, S.C. Ação de extratos vegetais no controle in vitro de *Colletotrichum lidemuthianum* e *Fusarium oxysporum*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.24, n.2, p.308, 1999. Suplemento.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p.

GULLUCE, M.; SOKMEN, M.; DAFERERA, D.; AGAR, G.; OZKAN, H.; KARTAL, N.; POLISSIOU, M.; SOKMEN, A.; SAHIN, F. In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, Easton, v.51, n.14, p.3958-3965, 2003.

HARISH, S.; SARAVANAKUMAR, D.; RADJACOMMARE, R.; EBENEZAR, G.; SEETHARAMAN, K. Use of plant extracts and biocontrol agents for the management of brown spot disease in rice. **BioControl**, Dordrecht, v.53, n.3, p.555-567, 2008.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA.
Produção agrícola 2008/2009. Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 28 jan. 2009.

ISHIKAWA, F.H.; SOUZA, E.A.; SILVA, K.J.D.; FREIRE, C.N.S. Pathogenic variability of causal agent of common bean anthracnose. **Annual Reporto of the Bean Improvement Cooperative**, Fort Collins, v.51, n.1, p.184-185, 2008.

ITAKO, A.T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Atividade antifúngica e proteção do tomateiro por extratos de plantas medicinais. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, DF, v.33, n.3, p.241-244, 2008.

JUNQUEIRA, N.T.V.; CHAVES, G.M.; ZAMBOLIN, L.; ROMEIRO, R.S.; GASPAROTTO, R. Isolamento, cultivo e esporulação de *Mycrocyclus ulei*, agente etiológico do mal-das-folhas da seringueira. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v.31, n.177, p.322-331, 1984.

KELLY, J.D.; AFANADOR, L.; CAMERON, L.S. New races of *Colletotrichum lindemuthianum* in Michigan and implications in dry bean resistance breeding. **Plant Disease**, Quebec, v.78, n.1, p.892-894, 1994.

KIMATI, H. Doenças do feijoeiro: *Phaseolus vulgaris* L. In: GALLI, F. (Ed.). **Manual de fitopatologia das plantas cultivadas**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1980. v.2, p.297-318.

KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A.; REZENDE, J.A.M. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 2.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1997. v.2, p.383-385.

LAWTON, M.A.; LAMB, C.J. Transcriptional activation of plant defense genes by fungal elicitor, wounding, and infection. **Molecular and Cellular Biology**, Washington, DC, v.7, n.1, p.335-341, 1988.

LEE, S.H.; CHANG, K.S.; SU, M.S.; HUANG, Y.S.; JANG, H.D. Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. **Food Control**, Guildford, v.18, n.12, p.1547-1554, 2007.

LEITE, B.; PASCHOLATI, S.F. Hospedeiro: alterações fisiológicas induzidas por fitopatógenos. In: KIMATI, H.; AMORIM, L. (Org.). **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3.ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v.1, p.393-416.

LINDSEY, K.L.; STADEN, J. van. Growth inhibition of plant pathogenic fungi by extracts of *Allium sativum* and *Tulbaghia violacea*. **South African Journal of Botany**, Grahamstown, v.70, n.4, p.671-673, 2004.

MAGALLANES, C.; CÓRDOVA, C.; OROZCO, R. Actividad antibacteriana de extractos etanólicos de macroalgas marinas de la costa central del Perú. **Revista Peruana de Biología**, Lima, v.10, n.2, p.125-132, 2003.

MAGRO ANA, C.M.; BASTOS, M.; MEXIA, A. Efficacy of plant extracts against stored-products fungi. **Revista Iberoamericana de Micología**, Barcelona, v.23, n.3, p.176-178, 2006.

MAIA, J.G.S.; SILVA, M.H.L.; ANDRADE, E.H.A.; ZOGHBI, M.G.B.; CARREIRA, L.M.M. Essential oils from *Astronium urundeuva* (Allemão) Engl. and *A. fraxinifolium* Schott ex Spreng. **Flavour and Fragrance Journal**, Chichester, v.17, n.1, p.72-74, 2002.

MICROCOMPUTER Statistical Program. East Lansing: Michigan State University, 1991. 400p.

MIGUEL, E.G.; FERREIRA, L.R.; DONEGA, M.A.; DIAS-ARIEIRA, C.R.; AVILA, M.R. Atividade de extratos de nim (*Azadirachta indica*) sobre o crescimento de *Colletotrichum* spp. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v.32, n.2, p.S.18, 2006. Suplemento.

MORAES, W.B.C. Controle alternativo de fitopatógenos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.27, p.175-190, 1992. Edição especial.

MORAIS, M.S. **Efeito de dois extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Fusarium oxysporum* e da incidência da murcha em feijão-vagem**. 2004. 98p. Dissertação (Mestrado em Patologia de Sementes)-Universidade Federal da Paraíba, Areia.

MOREIRA, A.C.; ANTUNES, A.M.S.; PEREIRA JÚNIOR, N. Patentes: extratos de plantas e derivados. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Brasília, DF, v.7, n.33, p.62-71, 2004.

MOTOYMA, M.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; FIORI-TUTIDA, A.C.G.; SCAPIM, C.A. Indução de fitoalexinas em soja e em sorgo e efeito fungitóxico de extratos cítricos sobre *Colletotrichum lagenarium* e *Fusarium semitectum*. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.25, n.2, p.491-496, 2003.

MYTLE, N.; ANDRESON, G.L.; DOYLE, M.P.; SMITH, M.A. Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters. **Food Control**, Guildford, v.17, n.2, p.102-107, Feb. 2004.

NATURAL RURAL. **Produtos orgânicos**. Ribeirão Preto, 2004. Disponível em: <<http://www.naturalrural.com.br>>. Acesso em: 20 jan. 2009.

NINÕ, J.; NARVÁEZ, D.M.; MOSQUERA, O.M.; CORREA, Y.M. Antibacterial, antigungal and cytotoxic activities of eight Asteraceae and two Rubiaceae plants from Colombian biodiversity. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v.37, n.4, p.566-570, 2006.

OLIVA, A.; MEEPAGALA, K.M.; WEDGE, D.E.; HARRIES, D.; HALE, A.L.; ALIOTTA, G.; DUKE, S.O. Natural fungicides from *Ruta graveolens* L. leaves, including a new quinolone alkaloid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.51, n.4, p.890-896, 2003.

OLIVEIRA, R.F.; BAGGIO, A.J.; PASCHOALATI, S.F.; LEITE, B. Evidência de compostos fenólicos pré formados com ação anti-fúngica em extratos de folha de *Mimosa scabrella*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.18, n.2, p.269, 1992. Suplemento.

OLIVEIRA, S.H.F. Novos fungicidas e programas de pulverização para o controle da antracnose e da mancha angular do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, Jaguariuna, v.29, n.1, p.45-48, 2003.

PASTOR-CORRALES, M.A. **La antracnosis del fríjol comun, *Phaseolus vulgaris* en América Latina**. Cali: CIAT, 1992. 108p. (Doc de trabajo, 113).

PAULA JÚNIOR, T.J.; VIEIRA, R.F.; TEIXEIRA, H.; COELHO, R.R.; CARNEIRO, J.E.S.; ANDRADE, M.J.B.; REZENDE, A.M. **Informações técnicas para o cultivo do feijoeiro: comum na região central brasileira: 2007-2009**. Viçosa, MG: Epamig-CTZM, 2008. 180p. (Epamig. Série documentos, 42).

PAULETTI, P.M.; ARAUJO, A.R.; YOUNG, M.C.; GIESBRECHT, A.M.; BOLZANI, V.D. Non-Lignans from the leaves of *Styrax ferrugineus* (Styracaceae) with antibacterial and antifungal activity. **Phytochemistry**, Oxford, v.55, n.6, p.597-601, 2000.

PAULERT, R. **Atividade antimicrobiana e controle da antracnose do feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) utilizando polissacarídeo e extratos da macroalga marinha *Ulva fasciata***. 2005. 107p. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

PENTEADO, S.R. **Defensivos alternativos e naturais: para uma agricultura saudável**. Campinas: Grafimagem, 2001. 96p.

PEREIRA, H.S.; SANTOS, J.B.; ABREU, A.F.B. Linhagens de feijoeiro com resistência à antracnose selecionadas quanto a características agronômicas desejáveis. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.39, n.3, p.209-215, 2004.

PEREIRA, R.B. **Extrato de casca de café e óleo de tomilho no controle de *cercospora coffeicola* Berk & Cooke em tomateiro**. 2006. 79p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)-Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PESSOA, L.M. **Atividade ovicida in vitro de plantas medicinais contra *Haemonchus contortus***. 2001. 68f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias)-Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza.

PIGNONI, E.; CARNEIRO, S.M.T.P.G. Severidade da antracnose em feijoeiro e pinta preta em tomateirosob diferentes concentrações do óleo de nim em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.8, n.1, p.68-72, 2005.

PORTALAMAZÔNIA. **Flora brasileira**. Disponível em: <<http://portalamazonia.globo.com>>. Acesso em: 24 jan. 2009.

RAVA, C.A.; MOLINA, J.; KAUFFMANN, M.; BRIONES, I. Determinación de razas fisiológicas de *Colletotrichum lindemuthianum* em Nicaragua. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.18, n.3, p.388-391, set. 1993.

RAVA, C.A.; PURCHIO, A.F.; SARTORATO, A. caracterização de patótipos de *Colletotrichum lindemuthianum* que ocorrem em algumas regiões produtoras de feijoeiro comum. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.19, n.2, p.167-172, jun. 1994.

RESENDE, M.L.V. Induction of resistance against *Phoma costaricensis* on coffee leaves by extracts from citrus pulp and coffee leaves and husks. In: THE INTERNATIONAL JOINT WORKSHOP IN PR-PROTEINS AND INDUCED RESISTANCE, 1., 2004, Helsingor. **Proceedings...** Helsingor, 2004. p.79.

RIBEIRO, L.F.; BEDENDO, I.P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v.56, n.4, p.1267-1271, out./dez. 1999. Suplemento.

RIBERA, A.; COTORAS, M.; ZÚNIGA, G.E. Effect of extracts from in vitro-grown shoots of Quillaja saponaria Mol. on Botrytis cinerea Pers. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v.24, n.9, p.1803-1811, 2008.

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S.; FIORI-TUTIDA, A.C.G. Avaliação da atividade antifúngica de gengibre e eucalipto *in vitro* e em fibras de bananeira infectadas com *Helminthosporium* sp. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v.28, n.1, p.123-127, jan./mar. 2006.

RODRIGUES, J.; MICHELIN, D.C.; RINALDO, D.; ZOCCOLO, G.J.; SANTOS, L.C. dos; VILEGAS, W.; SALGADO, H.R.N. Antimicrobial activity of *Miconia* Species (Melastomataceae). **Journal of Medicinal Food**, New Rochelle, v.11, n.1, p.120-126, 2008.

ROSATI, D.; MAEYER, L. de; CREEMERS, P.; SCHOOF, H.; DECKERS, T. **Flower bud quality improvers**. New York: Bayer Crop Science, 2008. 26p.

SANTOS, A.S.R. **Programa ambiental: a última Arca de Noé**. Disponível em: <<http://orbita.starmedia.com>>. Acesso em: 20 dez. 2008.

SANTOS, A.B.C.; PONTE, J.J. Ação fungicida da manipueira no controle do Oídio. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.19, n.2, p.302, 1993.

SANTOS, F.S.; SOUZA, P.E.; RESENDE, M.L.V.; POZZA, E.A.; MIRANDA, J.C.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; MANERBA, F.C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.32, n.1, p.59-63, 2007.

SARTORATO, A. Antracnose. In: ZIMMERMANN, M.J.O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. **Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba: Potafos, 1988. p.457-477.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.28, n.2, p.S54-S56, 2003. Suplemento.

SCHWARTZ, H.F. Anthracnose. In: HALL, R. **Compendium of bean disease**. Saint Paul: The American Phytopathological Society, 1994. p.16-17.

SENA, E.S.; PONTE, J.J. A manipueira no controle da Meloidoginose da cenoura. **Revista da Sociedade Brasileira de Nematologia**, Piracicaba, v.6, n.1, p.95-98, 1982.

SILVA, I.D.; TAKATSUKA, F.S.; ROCHA, M.R.; CUNHA, M.G. Efeito do extrato de sucupira (*Pterodon emarginatus* Vog.) sobre o desenvolvimento de fungos e bactérias fitopatogênicos. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v.35, n.2, p.109-115, 2005.

SILVA JÚNIOR, J.; SANTOS, V.A.; CARVALHO, E.A.; CARVALHO, E.R.; FRAGA, A.C.; CASTRO NETO, P.; REZENDE, P.M. **Extratos de mamona no controle da ferrugem asiática da soja**. Disponível em: <<http://www.fasb.edu.br>>. Acesso em: 23 jan. 2009.

SILVA, K.J.D.; SOUZA, E.A.; ISHIKAWA, F.H. Characterization of *Colletotrichum lindemuthianum* isolates from the state of Minas Gerais, Brazil. **Journal Phytopathology**, Saint Paul, v.155, n.4, p.241-247, 2007.

SILVA, M.B.; NICOLI, A.; COSTA, A.S.V.; BRASILEIRO, B.G.; JAMAL, C.M.; SILVA, C.A.; PAULA JÚNIOR, T.J.; TEIXEIRA, H. Ação antimicrobiana de extratos de plantas medicinais sobre espécies fitopatogênicas de fungos do gênero *Colletotrichum*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.10, n.3, p.57-60, 2008.

SOUZA, A.E.F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L.C. Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.32, n.6, p.465-471, 2007.

STADINIK, M.J.; BETTIOL, W.; SAITO, M.L. Bioprospecting for plant and fungus extracts with systemic effect to control the cucumber powdery mildew. **Journal of Plant Diseases and Protection**, Berne, v.110, n.4, p.383-393, 2003.

STADINIK, M.J.; MARASCHIN, M. Indução de resistência de plantas a fitopatógenos. In: STADINIK, M.J.; TALAMINI, V. (Ed.). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: UFSC, 2004. p.221-244.

STADNIK, M.J. Uso potencial de algas no controle de doenças de plantas. In: REUNIÃO DE CONTROLE BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS, 8., 2003, Ilhéus, BA. **Anais...** Ilhéus: Ceplac/Cepec, 2003. p.70-74.

STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biociência**, Brasília, DF, v.11, n.1, p.16-21, 1999.

SUTTON, B.C. The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: BAILEY, J.A.; JEGGER, M.J. (Ed.). **Colletotrichum: biology, pathology and control**. Wallingford: CAB International, 1992. p.1-26.

TALAMINI, V.; STADINIK, M.J. Extratos vegetais e de algas no controle de doenças de plantas. In: _____. **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: CCA/UFSC, 2004. p.45-62, 293p.

TEGEGNE, G.; PRETORIUS, J.C. In vitro and in vivo antifungal activity of crude extracts and powdered dry material from Ethiopian wild plants against economically important plant pathogens. **BioControl**, Dordrecht, v.52, n.6, p.877-888, 2007.

TEGEGNE, G.; PRETORIU, J.C.; SWARTB, W.J. Antifungal properties of *Agapanthus africanus* L. extracts against plant pathogens. **Crop Protection**, Guildford, v.27, n.7, p.1052-1060, 2008.

VALARINI, P.J.; FRIGHETTO, R.T.S.; MELO, I.S. Potencial da erva medicinal *Cymbopogon citratus* no controle de fitopatógenos do feijoeiro. **Revista de Agricultura**, São Paulo, v.69, n.2, p.139-150, 1994.

VECHIATO, M.H.; LASCA, C.C.; KOHARA, E.Y.; CHIBA, S. Antracnose do feijoeiro: tratamento de sementes e correlação entre incidência em plantas e infecção de sementes. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.68, n.1, p.83-87, 2001.

VELASQUEZ, J.; ROJAS, L.B.; USUBILLAGA, A. Antifungal activity of naphthoquinone from *Tabebuia serratifolia* (Vahl. Nicholson). **Ciencia**, Maracaibo, v.12, n.1, p.64-69, 2004.

VIANA, V.M.; VERÍSSIMO, A.; PINHEIRO, L.A.F.V. **Estratégia nacional de diversidade biológica utilização sustentável de componentes da diversidade biológica e incentivos**. Campinas, 1998. Disponível em: <<http://www.bdt.org.br>>. Acesso em: 19 dez. 2008.

VIEIRA, R.F.; VIEIRA, C.; RAMOS, J.A.O. **Produção de sementes de feijão**. Viçosa, MG: Epamig, 1993. 131p.

WORDELL FILHO, J.A. Manejo ecológico de doenças de plantas em Santa Catarina. In: STADNIK, M.J.; TALAMINI, V. (Ed.). **Manejo ecológico de doenças de plantas**. Florianópolis: UFSC, 2004. p.31-46.

YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V.C. Breve análise histórica da química da plantas medicinais: sua importância na atual concepção de fármaco segundo os paradigmas ocidental e oriental. In: YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Argos, 2001. p.17-44.

ZAMBONELLI, A.; AURELIO, A.Z. d'; BIANCHI, A.; ALBASIN, A. Effects of essential oils on phytopathogenic fungi in vitro. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.144, n.3, p.491-494, 1996.

ANEXOS

ANEXOS A

	Páginas
Tabela 1A. Resumo da análise de variância para o efeito dos extratos vegetais no crescimento micelial (CMI) e na porcentagem de conídios germinados (PCG) de <i>C. lindemuthianum</i>	61
Tabela 2A. Resumo da análise de variância para o efeito local (EL) e sistêmico (ES) dos extratos vegetais na severidade da antraconose em plantas de feijoeiro.....	61

TABELA 1A Resumo da análise de variância para o efeito dos extratos vegetais no crescimento micelial (CMI) e na porcentagem de conídios germinados (PCG) de *C. lindemuthianum*.

FV	GL	QM	
		CMI	PCG
Tratamento (T)	14	11,38*	4417,83*
Isolados (I)	3	1,15*	101,64*
T x I	42	0,19*	14,31
Erro	60 ¹ /180 ²	0,01	31,66
Média		6,43	28,13

CV = 1,66%¹/20,00%²

*significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.

¹CMI/²PGC

TABELA 2A Resumo da análise de variância para o efeito local (EL) e sistêmico (ES) dos extratos vegetais na severidade da antraconose em plantas de feijoeiro.

FV	GL	QM	
		CMI	PCG
Tratamento (T)	14	18,00*	30,70*
Isolados (I)	1	0,33	0,01
T x I	14	0,34	0,09
Erro	90	0,69	0,58
Época (E)	1	134,58*	142,14*
T x E	14	0,90*	1,43*
I x E	1	0,24*	0,08*
T x I x E	14	0,04	0,07*
Erro	90	0,05	0,06
Média		5,24	4,33

CV = 4,44%¹/6,06%²

¹EL/²ES

*significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste de F.