

Composição química e atividade in vitro de óleos essenciais sobre a mancha púrpura da soja

Camila Bonato Vicenço (camila_bonatto@hotmail.com)

Marina Cenci Feltracco (cefeltmarina@gmail.com)

Helen Corso Cavião (helen_cor94@hotmail.com)

Marcia Regina Pansera (mrpancer@ucs.br)

Valdirene Camatti Sartori (vcsartor@ucs.br)

Laboratório de Agricultura Orgânica/Instituto de Biotecnologia/
Universidade de Caxias do Sul

Resumo: Vários patógenos atacam a cultura da soja (*Glycine max*), dentre estes, o fungo *Cercospora kikuchii*, causador da mancha púrpura da semente e do crestamento foliar. A doença afeta as folhas, pecíolos, hastes, vagens e sementes e pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta. Em clima quente e úmido o fungo pode produzir danos que podem chegar a 30% da produção. No sistema de produção convencional, o controle químico é uma opção importante, entretanto o emprego frequente destas moléculas pode desencadear a resistência genética nos fitopatógenos e vários impactos ao ambiente e à saúde dos agricultores e consumidores. No sistema de produção orgânico, as formas de controle são apenas a seleção de sementes e as práticas culturais. Neste contexto, o desenvolvimento de alternativas de menor impacto ambiental para o controle da cercosporiose beneficiará tanto a agricultura orgânica, como a convencional. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de óleos essenciais de *Lippia alba*, *Tagetes minuta*, *Psidium cattleianum*, *Schinus molle* e *Schinus terebinthifolius* e do fungicida carbendazim no controle do patógeno *Cercospora kikuchii* e avaliar a germinação de sementes de soja com o óleo de melhor resultado. A conclusão deste trabalho foi que os óleos essenciais de *L. alba*, *T. minuta* e *P. cattleianum* inibiram in vitro o crescimento micelial do patógeno *C. kikuchii*. O óleo de *L. alba* apresentou o melhor resultado, demonstrando assim 72% de proteção da semente no teste de germinação.

Palavras-chave: Mancha púrpura, Controle alternativo, *Cercospora kikuchii*.

Abstract: Various pathogens attack the soybean crop (*Glycine max*), among which is of great importance *Cercospora kikuchii* the fungus that causes the purple seed stain and leaf blight. The disease affects leaves, petioles, stems, pods and seeds and can occur in any stage of development of the plant. In hot and humid weather, the fungus can produce damage that can reach 30% of production. In the conventional production system, chemical control is an important option, though the frequent use of these molecules can trigger genetic resistance in pathogens and various impacts on the environment and health of farmers and consumers. In the organic production system, the forms of control are just a selection of seeds and cultural practices. In this context, the development of alternatives with less environmental impact for the control of *Cercospora leaf spot* should benefit both organic farming and conventional. The main of this study was to evaluate the effect of essential oils of *Lippia alba*, *Tagetes minuta*, *Psidium cattleianum*, *Schinus molle* and *Schinus terebinthifolius* and carbendazin fungicide on seed germination and reduce the incidence of the disease in seedlings. The essential oils of *L. alba*, and *T. minuta* and *P. cattleianum* inhibited in vitro mycelial growth of the pathogen *C. kikuchii* and to evaluate the germination of soybean seeds with the best yielding oil. The conclusion of this work was that the essential oils of *L. alba*, *T. minuta* and *P. cattleianum* inhibited in vitro the mycelial growth of the pathogen *C. kikuchii*. The *L. alba* oil presented the best result, thus showing 72% seed protection in the germination test.

Keywords: Purple stain, Alternative control, *Cercospora kikuchii*.

1. INTRODUÇÃO

A soja é a cultura agrícola brasileira que mais cresceu nas últimas três décadas e corresponde a 49% da área plantada em grãos do país [3]. As mais importantes áreas de cultivo localizam-se nos Estados do Mato Grosso, Paraná e Rio Grande do Sul [7]. O aumento da produtividade está associado aos avanços tecnológicos, ao manejo e eficiência dos produtores. O grão é o componente essencial na fabricação de rações animais e com uso crescente na alimentação humana encontra-se em franco crescimento [8]. Cultivada especialmente nas regiões Centro Oeste e Sul do país, o grão se firmou como um dos produtos mais destacados da agricultura nacional e na balança comercial.

O cultivo de soja no Brasil se orienta por um padrão ambientalmente responsável, ou seja, com o uso de práticas de agricultura sustentável, como o sistema integração-lavoura-pecuária e a utilização da técnica do plantio direto. São técnicas que permitem o uso intensivo da terra e com menor impacto ambiental, o que reduz a pressão pela abertura de novas áreas e contribui para a preservação do meio ambiente. O Brasil é autossuficiente na produção de soja, abastecendo o mercado interno e enviando o excedente ao mercado externo [11]. O consumo interno está em constante ascensão e a previsão é de que 45% do aumento da produção seja destinado ao mercado interno em 2019.

O complexo de soja (grão, farelo e óleo) é o principal gerador de divisas cambiais do Brasil, com negociações anuais que ultrapassam US\$ 20 bilhões. Em 2019, a produção nacional deve representar 40% do comércio mundial do grão e 73% do óleo de soja. A previsão da taxa de crescimento anual de produção de soja é de 2,43% até 2019, próxima da taxa mundial, estimada em 2,56% para os próximos anos [7]. Este bom desempenho, no entanto, tem sido garantido frequentemente pelo uso de agrotóxicos, pois a ocorrência de doenças e pragas é comum devido as diversas condições climáticas em nosso país. Mais de cem patógenos atacam a cultura da soja, entre os quais tem grande importância o fungo *Cercospora kikuchii*, causador da mancha púrpura da semente e do crestamento foliar [6].

Esta doença ocorre em todas as regiões produtoras de soja e naquelas de clima quente e chuvoso as perdas decorrentes podem chegar a 30% [16]. A doença afeta as folhas, pecíolos, hastes, vagens e sementes e pode ocorrer em qualquer estágio de desenvolvimento da planta. Nas folhas, as manchas desenvolvem-se em ambos os lados, geralmente angulares e de cor marrom-avermelhada. Já nas sementes o sintoma é o desenvolvimento de manchas de coloração rosa variando até o roxo pálido ou escuro, que podem cobrir toda semente [3].

As sementes infectadas podem não germinar ou, quando germinam, produzem plântulas doentes. Os

cotilédones são enrugados, e podem ter uma coloração roxa escura, e caem prematuramente. Em clima quente e úmido o fungo esporula nos cotilédones e na haste afetada [12]. Esses confídios servem de inóculo secundário e são facilmente disseminados pelo vento e por respingos de água. O patógeno também sobrevive em restos culturais.

Dentre as medidas recomendadas para o controle desta doença destacam-se o uso de sementes sadias, a rotação de culturas, o manejo dos restos culturais, a redução da densidade de plantas no campo e o controle químico [14]. No sistema de produção convencional o controle químico é uma opção importante, entretanto o emprego frequente destas moléculas pode desencadear uma série de problemas como a resistência genética e vários impactos ao ambiente e à saúde dos agricultores e consumidores. No sistema de produção orgânico, as formas de controle são apenas a seleção de sementes e as práticas culturais [9].

Neste contexto, o desenvolvimento de alternativas de menor impacto ambiental para o controle da cercosporiose deverá beneficiar tanto a agricultura orgânica como a convencional [4]. Nas últimas décadas, o biocontrole, os biofertilizantes, caldas, extratos e óleos essenciais de plantas têm sido empregados com sucesso no controle de algumas doenças [2]. Os óleos essenciais constituem os elementos voláteis produzidos em órgãos vegetais e são relacionados com a sobrevivência vegetal, exercendo papel na defesa contra os micro-organismo [15].

Como alternativa ao controle químico da cercosporiose, no presente trabalho foram comparados os efeitos dos óleos essenciais de *Lippia alba*, *Tagetes minuta*, *Psidium cattleianum*, *Schinus molle* e *Schinus terebinthifolius* e do fungicida carbendazim no controle do patógeno *Cercospora kikuchii*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Controle de Doenças de Plantas do Instituto de Biotecnologia da Universidade de Caxias do Sul, localizado no município de Caxias do Sul/RS. As extrações dos óleos essenciais foram realizadas no Laboratório de Óleos essenciais do mesmo Instituto. Os testes ocorreram no período de setembro de 2010 a junho de 2011, seguindo a metodologia descrita por Ethur et al. [5], com algumas modificações.

2.1 Microrganismo:

O fitopatógeno *Cercospora kikuchii* (A58/11) foi isolado da soja com sintomas de cercosporiose, da região de Londrina - Paraná, e reativado da Micoteca do Laboratório de Fitopatologia e Controle Biológico de Plantas, Universidade de Caxias do Sul, onde está depositado.

2.2 Material vegetal:

Amostras das plantas *Lippia alba*, *Tagetes minuta*, *Psidium cattleianum*, *Schinus molle*, *S. terebinthifolius* foram coletadas de canteiros próprios do Instituto de Biotecnologia, Universidade de Caxias do Sul.

2.3 Óleos essenciais:

Os óleos essenciais das plantas foram obtidos pelo método de hidrodestilação, logo depois da secagem das plantas em secador com fluxo de ar, 40° C, por 48 horas.

2.4 Análise química dos óleos essenciais:

A composição química dos óleos essenciais foi definida por cromatografia a gás (GC) e cromatografia a gás acoplada a detector seletivo de massas (GC/MS). As análises em GC foram realizadas em Hewlett Packard 6890, equipado com um processador de dados HP-Chemstation. As análises foram realizadas em coluna polar HP-Innowax (30 m x 320 µm i.d.) 0,50 µm de espessura de filme (Hewlett Packard, USA), com a seguinte programação de temperatura 40° C (8 min) para 180° C a 3°C/min, 180-230° C a 20°C/min, 230°C (20 min); temperatura de injetor 250°C; razão de split 1:50, temperatura do detector FID 250°C; gás de arraste H₂ (34Kpa), volume injetado 1 µL diluído em hexano (1:10).

As análises em CG/MS foram realizadas em Hewlett Packard 6890/MSD5973, equipado com software HP Chemstation e espectroscopia Wiley 275. As análises foram realizadas em coluna polar HP-Innowax (30 m x 250 µm) 0,50 µm espessura de filme (Hewlett Packard, USA). O programa de temperatura utilizado foi o mesmo usado na análise em GC, interface 280°C; razão de *split* 1:100; gás de arraste He (56 Kpa); energia de ionização *cut* 3,5 min, volume injetado 0,4 µL diluído em hexano (1:10).

2.5 Seleção do melhor óleo essencial na inibição do desenvolvimento micelial do fitopatógeno *Cercospora kikuchii*:

Para avaliar o efeito dos óleos essenciais de *L. alba*, *T. minuta*, *P. cattleianum*, *S. molle* e *S. terebinthifolius* sobre o crescimento micelial do patógeno, alíquotas de 10, 50, 100, 150 e 200 µL de cada óleo, previamente autoclavadas, foram diluídas em Tween 20 (1:1), e adicionadas a 100 mL de meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) fundente (~50°C), evitando-se a volatilização do óleo essencial.

O meio de cultura foi distribuído em placas de Petri, e após a sua solidificação, foi transferido para o centro de cada placa um disco (0,5 cm de diâmetro) de ágar colonizado retirado de uma colônia em crescimento de *C. kikuchii*. O tratamento químico (carbendazim) foi realizado da mesma forma, como para os óleos essenciais, mas apenas na concentração 0,16 mg/100mL (dose recomendada) e, no tratamento testemunha apenas BDA. Em seguida, todos os tratamentos foram incubados em câmara de crescimento com fotoperíodo de 12 horas e temperatura de 25°C. A medida do diâmetro das colônias foi tomada com um paquímetro digital, no 3°, 7° e 14° dias após a incubação.

2.6 Avaliação da germinação de sementes de soja:

A germinação das sementes infectadas pelo patógeno foi realizada segundo as metodologias de [10] com algumas modificações seguindo-se os seguintes passos:

a. Infecção das sementes com o fitopatógeno: Para a realização dos experimentos, sementes de soja da *vr* BMX

FORÇA foram desinfestadas com hipoclorito de sódio a 1% por três minutos e depois depositadas em placas de Petri contendo uma suspensão aquosa de células ($1 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$) do patógeno, permanecendo nesta condição por 64 horas.

b. Germinação das sementes: Para avaliação do efeito do melhor óleo essencial na melhor concentração e do carbendazim sobre a germinação das sementes, foi planejado um experimento com sete tratamentos. Em cada um foram utilizadas 150 sementes distribuídas em três repetições de 50 sementes. Ao final da preparação de todos os tratamentos, as sementes foram depositadas sobre papel umedecido com um volume de água equivalente a 2,5 vezes o seu peso. O papel foi então enrolado sobre si mesmo formando um rolo (rolo de germinação) e colocado em câmara de germinação a 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Após cinco dias foi computado o número de sementes germinadas.

Os tratamentos foram os seguintes:

Tratamento 1 – Curativo: sementes infectadas foram mergulhadas por três minutos em solução aquosa com o melhor óleo na sua melhor concentração.

Tratamento 2 – Curativo: sementes infectadas foram mergulhadas em calda aquosa contendo o fungicida carbendazim (0,16 mg/100 mL), por três minutos.

Tratamento 3 - Preventivo: sementes não infectadas foram mergulhadas por três minutos no melhor óleo na sua melhor concentração. Depois de secarem sobre papel de filtro esterilizado, imediatamente foram colocadas em contato com o patógeno durante 64 horas.

Tratamento 4 – controle A: sementes infectadas foram mergulhadas por três minutos em água destilada autoclavada.

Tratamento 5 – controle B: sementes não infectadas foram mergulhadas por três minutos em solução aquosa com o melhor óleo na sua melhor concentração.

Tratamento 6 – controle C: sementes não infectadas foram mergulhadas por três minutos em solução aquosa com Tween 20.

Tratamento 7 – controle D: sementes não infectadas foram mergulhadas por três minutos em água destilada autoclavada.

Avaliação da emergência de plântulas: As sementes germinadas no item anterior (c) foram transferidas para copos plásticos de 100 mL de volume, preenchidos com substrato (marca: Carolina) autoclavado. O comportamento do desenvolvimento das plântulas em câmara de germinação a $\pm 25^\circ\text{C}$, sob regime alternado de 12 horas de luz e 12 horas de escuro, foi acompanhado por dez dias.

2.7. Análise estatística dos dados:

Os dados alcançados nos experimentos foram submetidos a análise de variância e da homocedasticidade para verificação da confiabilidade. As médias dos resultados totais foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa IBM SPSS 19 Statistics.

3. RESULTADOS E ANÁLISES

As plantas apresentaram diferentes rendimentos de óleo essencial e composição química, considerando-se a massa seca das plantas e seus compostos majoritários como pode ser observado na Tabela 1.

Tabela 1. Rendimento do óleo essencial das plantas e o teor do composto majoritário.

Planta	Rend. ó. e. (%)	Composto majoritário	Teor do composto majoritário (%)	Referência bibliográfica *
<i>S. molle</i>	1,16	α -Pinenos	44	Santos <i>et al.</i> (2010)
<i>P.cattleyanum</i>	0,12	1,8 Cineol	38	Manica-Catani, 2009
<i>L. alba</i>	1,65	Linalol	59	Belaiche <i>et al.</i> (2005)
<i>S.sterebinthifolius</i>	0,62	α -Pinenos	27	Santos <i>et al.</i> (2010)
<i>T. minuta</i>	0,92	Cistageton a	39	Saavedra, 2002

* Dados corroborados

Os dados apresentados na Tabela 2 demonstram que entre os óleos essenciais avaliados, *L. alba*, *P. cattleyanum* e *T. minuta* foram os mais eficientes nas suas maiores concentrações, na inibição do desenvolvimento de *C. kikuchii*. No tratamento com o fungicida carbendazim o fungo foi inibido na concentração proposta pelo fabricante e, no tratamento testemunha o fungo desenvolveu-se por toda a superfície do meio de cultura.

Tabela 2. Porcentagem de inibição dos diferentes tratamentos, concentrações de óleos essenciais das plantas e do carbendazim (fungicida recomendado) sobre o crescimento micelial do fungo *Cercospora kikuchii*.

Tratamentos utilizados	A	B	C	D	E
0,05% O.E	0b	0b	0b	0a	0a
0,10% O.E	0b	0b	0b	0a	0a
0,15% O.E	100% a	0b	0b	0a	0a
0,20% O.E	100% a	100%a	100%a	0a	0a
Testemunha	0b	0b	0b	0a	0a

Carbendazim

100% de inibição na concentração 0,16 mg/mL⁻¹

A- *L. alba*; B- *P. cattleyanum*; C- *T. minuta*; D- *S. terebinthifolius*; E- *S. molle*

Entre os óleos essenciais testados na redução do desenvolvimento do fungo, o óleo essencial de *L. alba* destacou-se, já que os seus princípios ativos provocaram uma inibição de 100%, a partir da concentração de 0,15%. Da mesma forma, Belaiche *et al.* [1] relataram que o linalol, composto majoritário de *L. alba* (Tabela 1), apresenta bons resultados como acaricida, bactericida e fungicida, dentre outras funções, tais como sedativa, hipnótica, hipotérmica, anticonvulsivante, anti-inflamatória e analgésica entre outras [19]. Como atividade antifúngica, Tereschuk *et al.* [20] relataram que o extrato bruto de *L. alba* possui ação fungitóxica *in vitro* sobre o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos: *Alternaria alternata*, *Colletotrichum graminicola*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*.

O óleo essencial de *P. cattleyanum* e *T. minuta* inibiram em 100% o fungo na concentração de 0,20%, sem demonstrar esta propriedade nas doses menores. Outros autores como Souza *et al.* [17] relataram que outras espécies do gênero *Psidium*, como *P. guayava* vr. *Pomifera*, também produzem óleos com capacidade antifúngica, porém em doses menores de 0,1% (1µl/mL). Esta diferença pode ser devida a características das espécies. Em relação ao óleo essencial de *T. minuta*, Tereschuk *et al.* [20] observaram que o extrato aquoso desta planta tem boa atividade bactericida sobre *Escherichia coli*, porém pouco se sabe sobre atividade antifúngica, o que foi demonstrado no presente trabalho.

Os óleos essenciais de *S. terebinthifolius* e *S. molle* afetaram o crescimento micelial do fungo a partir da concentração 0,15 e 0,10 %, respectivamente, sem, no entanto, atingir 100% nem na concentração máxima testada. Este dado sugere que a ação destes óleos não seja tão grande quanto a dos outros óleos testados, o que vem de encontro aos resultados de Santos *et al.* [13], que verificaram que o extrato de aroeira (*Schinus* spp.) na concentração de 13,5 mg/mL apresentou atividade bactericida sobre as linhagens de *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, mas não apresentou nenhuma atividade antifúngica sobre *Aspergillus niger* e *A. flavus*. Em trabalhos semelhantes foi observado que o óleo de *S. molle* inibiu o crescimento de alguns fungos como *Fusarium* spp. e *Botrytis* spp., mas somente em diluições acima de 25%, *Colletotrichum* spp. e *Alternaria* spp. com 50% de óleo essencial [13, 18].

Diante dos resultados alcançados neste experimento, o óleo selecionado para os demais experimentos foi o óleo essencial de *L. alba*.

3.1. Avaliação da germinação e incidência de sementes germinadas com sintomas da doença:

Em relação ao número de sementes germinadas foi observado que nenhum dos tratamentos provocou uma grande redução, pelo contrário, a partir de N=150, a maioria das sementes germinaram. Estes dados (Tabela 3) indicam que mesmo na presença do patógeno, as sementes germinam, podendo ou não apresentar sintomas da doença. Entretanto, durante o desenvolvimento das plântulas os sintomas surgiram, como pode ser observado na mesma tabela.

Neste experimento destacaram-se os tratamentos T2 (curativo com fungicida carbendazin) e T3 (preventivo com óleo), nos quais o percentual de plântulas com sintomas da doença foi menor quando comparado aos outros tratamentos com sementes infectadas.

O tratamento preventivo com o óleo (T3) obteve um ótimo desempenho, reduzindo drasticamente a incidência de plântulas com sintomas, alcançando 28% de incidência da doença ou 72% de proteção, enquanto o tratamento controle (T4) apresentou 75% de plântulas com sintomas ou apenas 25% de proteção. Este resultado, comprova a eficácia do óleo de *L. alba*, uma vez que apresentou comportamento semelhante ao fungicida carbendazin.

Tabela 3: Efeito dos óleos essenciais sobre a germinação de sementes e a instalação da doença nas plântulas.

Tratamentos (N=150)	Sementes germinadas	% Plântulas doentes
T1*	127 a	53a
T2**	140 a	29b
T3***	119 a	28b
T4****	129 a	75a
T5*****	119 a	0c
T6*****	128 a	0c
T7*****	145 a	0c

Letras iguais na coluna não diferem significativamente (p≤0,05).

*T1: sementes infectadas tratadas com óleo *L. alba* (0,20%).

**T2: sementes infectadas tratadas com carbendazin (0,16 mg/100 mL).

***T3: sementes tratadas preventivamente com óleo de *L. alba* (0,20%).

****T4: sementes infectadas tratadas com água destilada.

*****T5: sementes não infectadas tratadas com o óleo de *L. alba* (0,20%).

*****T6: sementes não infectadas tratadas com Tween 20 (0,20mg/mL).

*****T7: sementes não infectadas tratadas com água destilada autoclavada.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os óleos essenciais de *Lippia alba*, *Tagetes minuta* e *Psidium cattleyanum* inibiram *in vitro* o crescimento micelial do patógeno *C. kikuchii*. O óleo essencial de *L. alba* reduziu a incidência da doença nas plântulas de forma tão eficiente como o fungicida carbendazin, recomendado no sistema de produção convencional.

O óleo essencial de *L. alba* foi eficiente como tratamento preventivo, mas não como curativo. Entre os óleos avaliados neste trabalho, o óleo essencial de *L. alba* apresentou o melhor potencial de uso para o controle da mancha púrpura da semente, causada por *C. kikuchii*.

5. REFERÊNCIAS

- [1] BELAICHE, T., TANTAQUI-ELARAKI, A., IBRAHIMY, A. Application of a two levels factorial design to the study of the antimicrobial activity of three terpenes. **Sciences Aliments**. Vol. 15, p. 571-578, 2005.
- [2] BETTIOL, W.; TRATCH, R.; GALVÃO, J.A.H. Controle de doenças de plantas com biofertilizantes. **Circular Técnica**, Centro Nacional de Pesquisa do Meio Ambiente. Embrapa, Jaguariúna, São Paulo. Vol. 2, p. 1-22, 1997.
- [3] CARVALHO, E. R.; OLIVEIRA, J. A.; REIS, L. V.; FERREIRA, T. F. Mn foliar sobre a qualidade sanitária e lignina de sementes de soja convencional e resistente ao glifosato1. **Revista Ciência Agronômica**. Vol. 46, p. 135 – 143, 2015.
- [4] COSTA-SILVA, T. A.; SOUZA, C. R. F.; OLIVEIRA, W. P.; SAID, S. _Characterization and spray drying of lipase produced by the endophytic fungus *Cercospora kikuchii*. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**. Vol. 31, p. 849-858, 2014.
- [5] ETHUR, L.Z.; BLUME, E.; MUNIZ, M.; DA SILVA, A.C.F.; STEFANELLO, D.R.; DA ROCHA, E.K. Fungos antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* em pepineiro cultivado em estufa. **Fitopatologia Brasileira**. Vol. 302, p. 127-133, 2005.
- [6] HATMAN, G.; SINCLAIR, J.; RUPE, J. **Compendium of soybean diseases**. Saint Paul: p. 128, 1999.
- [7] INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Milho e soja fazem Brasil ter produção recorde de grãos em 2007**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias>) acesso em: 04/12/2007.
- [8] MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R.T.; MAGNO JÚNIOR, R.G. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciênc. Agrotec., Lavras**. Vol. 31, p. 83-90, 2007.
- [9] MESQUINI, R.M.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; VIEIRA, R.A.; NASCIMENTO, J.F. Controle e progresso temporal da ferrugem asiática da soja sob controle alternativo em campo. **Summa Phytopathol. Botucatu**. Vol. 37, p. 24-29, 2011.
- [10] OLIVEIRA, J. A.; MACHADO, J. C.; VIEIRA, M. G. G. C.; BRANDÃO, D. S. J. Transmissibilidade e danos causados por *Cercospora kikuchii* em sementes de soja. **Revista Brasileira de Sementes**, Vol. 15, p. 97-100, 1993.
- [11] REIS, E.M.; LIMA NETO, V.C.; GODOY, C.V.; ROSA, C.T.; CASTANHO, H.E. Controle químico da ferrugem asiática da soja na região sul do Paraná. **Scientia Agraria, Curitiba**. Vol. 8, p. 25, 2007.
- [12] ROZWALKA, L.C. **Controle alternativo da antracnose em frutos de goiaba em laboratório**. 2008. Tese (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 45p.
- [13] SANTOS, A. C. A.; ROSSATO, M.; SERAFINI, L. A.; BUENO, M.; CRIPPA, L.B.; SARTORI, V. C.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P. Efeito fungicida dos óleos essenciais de *Schinus molle* L. e *Schinus terebinthifolius* Raddi, Anacardiaceae, do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Vol.20, p. 154-159, 2010.
- [14] 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**. Vol. 32, p. 59-63, 2007.
- [15] SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças em plantas. **Fitopatologia Brasileira, Fortaleza**. Vol. 28, p. 54-56, 2003.
- [16] SEDIYAMA, T. **Tecnologias de produção e usos da soja**. Mecnas, p. 314, 2009.
- [17] SOUZA, I. T.; SALES, N. L. P.; MARTINS, E. R. Efeito fungitóxico de óleos essenciais sobre *Colletotrichum gloeosporioides*, isolado do maracujazeiro amarelo. **Biotemas**. Vol. 22, p. 77-83, 2009.
- [18] STANGARLIN, J.R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento in vitro de fungos fitopatogênicos. **Ciências Agrárias**. Vol. 30, p. 285-294, 2009.
- [19] TAVARES, E. S. Estudos integrados em *Lippia alba* (Verbenaceae) - uma planta de interesse econômico e medicinal. 2003. Tese (Doutorado). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 79 p.
- [20] TERESCHUK, M. L.; RIEIRA, M. V. Q.; CASTRO G. R.; ABDALA L. R. Antimicrobial activity of flavonoids from leaves of *Tagetes minuta*. **Journal of Ethnopharmacology**. Vol. 56, p. 227-232, 1997.