

PLANTAS MEDICINAIS

José Renato Stangarlin

Eng. Agr., M.Sc. e Dr. em Fitopatologia -

stangarlin@wnet.com.br

Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada

Eng. Agr., M.Sc. em Microbiologia e Dra. em

Fitopatologia - schwan@wnet.com.br

Maria Eugênia da Silva Cruz

Eng. Agr. e M.Sc. em Fitotecnia -

mcruz@wnet.com.br

Márcia H. Nozaki

Graduanda em Agronomia -

manozaki@hotmail.com

PLANTAS MEDICINAIS E CONTROLE ALTERNATIVO DE FITOPATÓGENOS

1. Introdução

Atualmente, em todos os lugares do mundo onde se pratica uma agricultura econômica, a intervenção para o controle de doenças de plantas é largamente realizada por meio de pesticidas (Kimati et al., 1997). Sem dúvida, o uso racional desses produtos pode ter, a curto prazo, um efeito positivo para o produtor. No entanto, a longo prazo, além do surgimento de isolados dos fitopatógenos resistentes às substâncias químicas utilizadas, os resultados para a sociedade como um todo e para o meio ambiente podem se tornar negativos devido à poluição causada pelos resíduos. Nesse contexto, termos como “agricultura alternativa” ou “agricultura sustentável” obtêm expressão política (Zadoks, 1992) e estimulam a busca de novas medidas de proteção das plantas contra as doenças.

Um dos enfoques da agricultura alternativa é o controle alternativo de doenças



Figura 1 - Algumas plantas medicinais utilizadas no controle alternativo de fitopatógenos: *Rosmarinus officinalis* (A) e *Ocimum basilicum* (B)



Figura 2 - Óleo essencial de *Achillea millefolium* (mil-folhas), de cor azul devido ao alto teor de azuleno, obtido por arraste a vapor

de plantas, no qual se incluem o controle biológico e a indução de resistência em plantas (não são incluídos nesse conceito o controle químico clássico e o melhoramento genético (Bettiol, 1991).

O controle biológico pode ser definido como o controle de um microrganismo pela ação direta de um outro microrganismo antagonístico, o qual pode atuar por meio de antibiose, parasitismo, competição, predação ou hipovirulência (Cook & Baker, 1983).

A indução de resistência (ou indução de proteção, imunidade adquirida, ou resistência sistêmica adquirida) envolve a ati-

vação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos (Hammerschmidt & Dann, 1997). Esses mecanismos de resistência induzidos podem ser estruturais, como papila, lignificação e tilose, ou bioquímicos, como o acúmulo de fitoalexinas e de proteínas relacionadas à patogênese (como β -1,3 glucanase e quitinase degradadoras da parede celular de fungos) (Pascholati & Leite, 1995). Essa ativação pode ser obtida pelo tratamento com agentes bióticos (como microrganismos viáveis ou inativados) (Stangarlin & Pascholati, 1994) ou abióticos, como ácido 2,6-dicloroisonicotínico (Hijwegwn et al., 1996) e benzo(1,2,3)tiadiazol-7 carbotióico (Ciba, 1995). A proteção conferida pelo tratamento é capaz de proteger a planta contra infecções subsequentes por diferentes patógenos (Kuc, 1995) e mostra-se como uma estratégia potencial para o controle fitossanitário (Lyon et al., 1995). A indústria de defensivos já tem desenvolvido moléculas não pesticidas capazes de proteger uma cultura contra os patógenos causadores de doenças apenas pela indução dos mecanismos de defesa da planta (Zadoks, 1997). Moléculas ou agentes de origem biótica ou abiótica, capazes de ativar ou induzir qualquer resposta de defesa nas plantas, são chamadas de elicitores (Smith, 1996). A variada natureza química dos elicitores, tais como oligossacarídeos, glicoproteínas, oligopeptídeos e ácidos graxos demonstra que não há uma característica estru-

Figura 3: Conjunto destilador de óleo essencial



tural única que determine a atividade elicitora.

As fitoalexinas são metabólitos secundários, antimicrobianos, de baixo peso molecular e produzidos pelas plantas em resposta a estresses físicos, químicos ou biológicos, sendo capazes de impedir ou reduzir a atividade de agentes patogênicos (Purkayastha, 1995). De forma geral, o modo de ação das fitoalexinas sobre fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas. Esses efeitos refletem-se na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo e redução ou inibição do crescimento micelial (Lo et al., 1996). Mais de 300 fitoalexinas já foram caracterizadas entre diferentes classes de compostos químicos como cumarina, diterpeno e flavonóide, entre outras, tendo sido identificadas em mais de 20 famílias de vegetais superiores (Smith, 1996). Em sorgo são conhecidas quatro fitoalexinas (flavonóides 3-deoxiantocianidinas): luteolinidina, 5-metoxiluteolinidina, apigeninidina e éster do ácido cafeico de arabinosol 5-O-apigeninidina (Nicholson et al., 1987). No caso da soja, a fitoalexina gliceolina (pterocarpanóide) mostra-se importante na interação dessa leguminosa com fitopatógenos (Burden & Bailey, 1975). Mesocótilos estiolados de sorgo e cotilédones de soja mostram-se como excelentes ferramentas para estudos que envolvam a ação elicitora de moléculas de origem biótica e abiótica.

A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais pode constituir, ao lado da indução de resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas. Algumas espécies estudadas sob este aspecto estão representadas na **Figura 1**. No Brasil, somente 20% da população consome 63% dos medicamentos disponíveis, enquanto que o restante encontra nos medicamentos de origem natural, especialmente nas plantas medicinais, a única fonte de recurso terapêutico (Di Stasi, 1996a). Até o momento, ainda não se conhece quase nada sobre a composição química de 99,6% das plantas de nossa flora, estimadas entre 40 mil a 55 mil espécies (Ming, 1996). Além disso, uma grande quantidade de compostos secundários das plantas medicinais já isolados e com estrutura química determinada ainda não foram estudados quanto a suas atividades biológicas. Esses compostos pertencem a várias classes distintas de substâncias químicas, como alcalóides, terpenos, lignanas, flavonóides, cumarinas, benzenóides, quinonas, xantonas, lactonas e esteróides, entre outras (Di Stasi, 1996b). Quando esses compostos são extraídos das plantas por processos específicos,



Figura 4 - Mesocótilos estiolados de sorgo obtidos após germinação em rolos de papel de filtro incubados sob condições de escuro

como a destilação por arraste de vapor de água, dão origem a líquidos de consistência semelhante ao óleo, voláteis, dotados de aroma forte, quase sempre agradável, insolúveis em água e solúveis em solventes orgânicos, denominados óleos essenciais

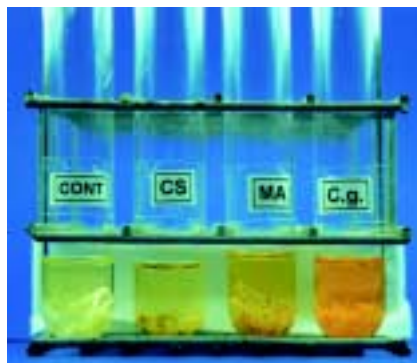


Figura 5 - Mesocótilos de sorgo após terem recebido o tratamento indutor. A pigmentação laranja em metanol indica a produção de fitoalexinas deoxiantocianidinas. Tratamento com extrato bruto de cardo santo (CS), manjerona (MA) e suspensão de esporos de *C. graminicola* (C.g.). (CONT): controle

(Silva et al., 1995) (**Figura 2**). Compostos secundários de plantas medicinais estão distribuídos em um grande número de famílias botânicas, com muitos deles apresentando atividade antimicrobiana, como é o caso dos alcalóides, com origem biossintética a partir da via metabólica do ácido shiquímico (Bennett & Wallsgrove, 1994).

Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial obtidos a partir de plantas medicinais da flora nativa têm indicado o potencial das mesmas no controle

de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de composto(s) com característica de elicitor(es). O fracionamento dos metabólitos secundários dessas plantas, bem como a determinação da atividade biológica dessas moléculas com respeito à atividade elicitora ou antimicrobiana poderão contribuir para a aquisição de maiores conhecimentos que reforcem sua possível utilização como um método alternativo de controle de doença de plantas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Plantas medicinais e obtenção de extrato bruto e óleo essencial

Na obtenção do extrato bruto (EB), folhas frescas das plantas medicinais alecrim (*Rosmarinus officinalis*), manjerona (*Origanum majorana*), alfavaca (*Ocimum basilicum*), mentrasto (*Ageratum conyzoides*), babosa (*Aloe vera*), mil-folhas (*Achillea millefolium*), orégano (*Origanum vulgare*), cardo santo (*Argemone mexicana*), pitanga

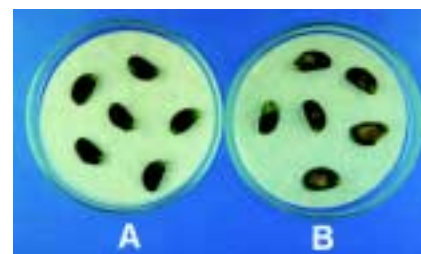


Figura 6 - Cotilédones de soja após tratamento para induzir a síntese de gliceolina (a pigmentação marrom está associada à produção da fitoalexina). (A): Tratamento elicitor; (B): Controle

(*Stenocalyx michelli*), erva cidreira (*Lippia alba*), poejo (*Mentha pulegium*), hortelã pimenta (*Mentha piperita*), romã (*Punica granatum*), goiabeira vermelha (*Psidium guayava* var. *pomifera*), eucalipto lima (*Eucalyptus citriodora*), manjerição (*Ocimum basilicum*), arruda (*Ruta graveolens*) e carqueja (*Baccharis trimera*) foram trituradas em água destilada, por 1 min, no liquidificador. Os homogenatos foram filtrados em gaze e em papel de filtro Whatman nº 41, obtendo-se então os EB. O óleo essencial de manjerição, arruda e carqueja foi obtido por arraste com vapor de água (**Figura 3**) a partir de folhas secas ao ar.

2.2. Bioensaio para produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo

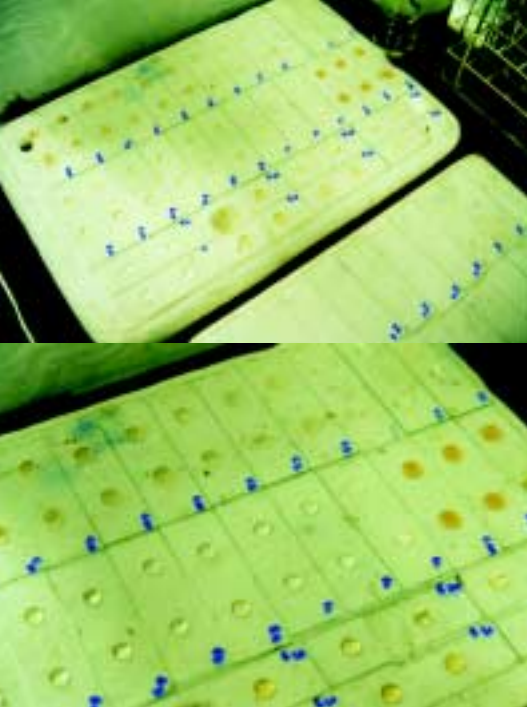


Figura 7 - Lâminas recobertas com poliestireno contendo os tratamentos para avaliar a germinação de esporos do fungo *Colletotrichum graminicola*. Foram utilizadas duas repetições por lâmina (cada repetição contém uma mistura de 40 µl de suspensão de esporos + 40 µl de extrato bruto de plantas medicinais)

Sementes de sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], cultivar Brandes, foram desinfetadas em hipoclorito de sódio 1% (15 min), lavadas em água destilada, enroladas em folhas de papel de germinação umedecidas e incubadas em escuro a 28 °C, por 4 dias. As plântulas formadas foram inicialmente expostas à luz por 4 h para paralisar a elongação dos mesocótilos (**Figura 4**) (Yamaoka et al., 1990).

Para o teste de produção de fitoalexinas, os mesocótilos foram aspergidos com os extratos brutos aquosos (concentração de 20%) obtidos das plantas medicinais e mantidos em câmara úmida, a 25 °C sob luz fluorescente, por um período de 60 h (Wulff & Pascholati, 1998). Os mesocótilos também foram aspergidos com uma suspensão de células de *Saccharomyces cerevisiae* (25 mg de fermento comercial/ml), esporos de *Colletotrichum graminicola* ou expostas à luz ultra-violeta (265 nm) por 1 h, como tratamentos controle positivos, ou água como controle negativo. Após esse período, três mesocótilos foram excisados, pesados, cortados em pequenos segmentos e colocados em tubo de ensaio contendo 1,4 ml de metanol 80% acidificado (0,1% HCl; v/v). Os mesocótilos cortados foram mantidos a 4 °C no metanol, por 96 h, para extração dos pigmentos (**Figura 5**). A absorvância foi determinada a 480 nm.

2.3. Bioensaio para produção de fitoalexinas em cotilédones de soja

Sementes de soja (*Glycine max* L.) da cultivar IAC-8 foram plantadas em areia esterilizada e mantidas em casa-de-vegetação. Nove a dez dias após, os cotilédones foram destacados das plântulas, lavados em água destilada, enxugados e cortados em secção aproximada de 1 mm de espessura e 6 mm de diâmetro a partir da superfície inferior. Seis cotilédones foram colocados em placa de Petri com papel de filtro umedecido com água destilada estéril (**Figura 6**). Sobre cada cotilédone foi aplicada uma alíquota de 20 µl dos extratos aquosos das plantas medicinais (concentração de 20%). Também foram utilizadas alíquotas de suspensão de células de *S. cerevisiae* e *C. graminicola* como controles positivos ou água como controle negativo. As placas foram mantidas a 25 °C e no escuro, por 20 h e, em seguida, os cotilédones foram transferidos para tubos de ensaio contendo 15 ml de água destilada estéril e deixados em agitação por 1 h para extração da fitoalexina formada. A absorvância foi determinada a 285 nm (Ayers et al., 1976).

2.4. Atividade antifúngica

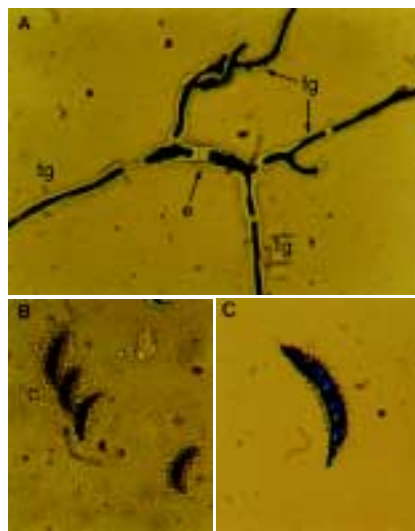


Figura 8 - Germinação de esporos de *C. graminicola* em presença do óleo essencial de *Ocimum basilicum*. (A): Controle: esporo (e) germinado contendo quatro tubos germinativos (tg); (B - detalhe em C): esporos não germinados na presença do óleo essencial

A) Germinação de esporos: A atividade antifúngica foi avaliada microscopicamente através da inibição da germinação de conídios de *Colletotrichum graminicola* (Cesati) G.V. Wilson. O fungo foi cultivado em meio de aveia-ágar por 14 dias, sob luz fluorescente constante, a 25 °C. Para o teste de inibição, uma alíquota de 40 µl da suspensão de esporos (1×10^5 conídios/ml) e outra de 40 µl dos extratos brutos aquosos

da planta medicinal *E. citriodora* (esterilizados em membrana Millipore com 0,45 µm de diâmetro de póro) foram colocadas juntas em lâmina de microscopia revestidas por uma camada delgada de poliestireno (Mercure et al., 1994) (**Figura 7**). As lâminas recobertas por poliestireno foram obtidas por sua imersão em uma solução contendo o polímero (uma placa de Petri de poliestireno com 90 mm de diâmetro) dissolvido em 50 ml de acetato de amila. Essas lâminas foram colocadas em câmara úmida e incubadas sob luz constante a 25 °C, sendo a porcentagem de germinação determinada 20 h após o início do experimento, através do emprego de azul algodão de lactofenol (para paralisar a germinação) e observação ao microscópio ótico.

A germinação de esporos de *C. graminicola* também foi avaliada na presença do óleo essencial de *O. basilicum*, *R. graveolens* e *B. trimera* esterilizados em membrana Millipore (0,45 µm). Para tanto, 100 µl de cada óleo essencial e 100 µl de suspensão de esporos (10^5 conídios/ml) foram colocados na superfície de placas de Petri contendo ágar-água (1%), espalhados com alça de Drigalski e incubados a 25 °C sob luz fluorescente. A germinação dos esporos foi paralisada com azul de algodão após 24 h e a avaliação dos esporos germinados realizada em microscópio ótico.

B) Crescimento micelial: Extrato bruto aquoso das plantas medicinais *O. basilicum*, *R. graveolens* e *B. trimera* foram incorporados em meio de cultivo BDA nas concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e 50% e autoclavados a 120 °C e 1 atm por 20 min. Uma hora após o meio ter sido vertido em placas de Petri, um disco de 8 mm de diâmetro, contendo micélio de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Alternaria alternata*, *Phytophthora* sp. e *C. graminicola*, com 15 dias de idade em BDA, foi repicado para o centro de cada placa, as quais foram vedadas com filme plástico e mantidas a 28 °C. Foram utilizadas cinco repetições por tratamento. O tratamento controle continha apenas o meio BDA. As avaliações foram realizadas por meio de medições diárias do diâmetro das colônias (média de duas medidas diametralmente opostas), 24 h após a instalação do experimento e perdurou até o momento em que as colônias fúngicas atingiram 2/3 da superfície do meio de cultura. Ensaio semelhante também foi realizado na presença de alíquotas de 20, 40, 100, 500 e 1000 µl do óleo essencial dessas plantas esterilizado em membrana Millipore (0,45 µm).

C) Cromatografia de camada delgada: Alíquotas de 100 µl do extrato bruto aquoso de cada planta medicinal foram utilizadas para a cromatografia de camada delgada em placas de sílica-gel 60 com indicador fluorescente (254 nm), pré-lavadas com clorofórmio/metanol (1:1, v/v). Após a colocação das amostras sobre as placas e secagem sob fluxo de ar, foi realizada a separação dos compos-

tos usando-se butanol/ácido acético/água (6:1:2, v/v/v) como sistema de solvente. Os compostos foram visualizados sob luzes visível e ultra-violeta longo (365 nm) e curto (254 nm). A seguir, as placas de sílica-gel secas contendo as bandas individuais foram aspergidas com suspensão de esporos de *C. graminicola* (1×10^5 conídios/ml de meio líquido Czapeck) e mantidas sob umidade relativa de 100% a 25°C e luz. Depois de 48 h, as placas foram observadas para a presença de zonas de inibição de crescimento micelial ao redor das bandas individuais.

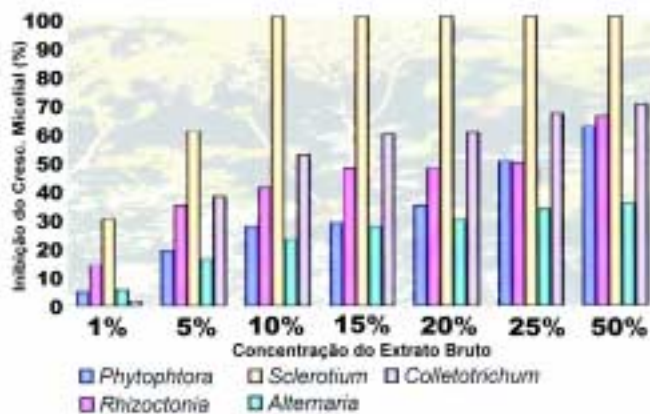
3. RESULTADOS

3.1. Síntese de fitoalexinas: Os resultados da síntese de deoxiantocianidinas em mesocótilos de sorgo estão representados na **Tabela 1**. Pode-se verificar que os extratos brutos de romã, erva cidreira, manjerona, babosa e orégano foram os mais efetivos, entre as plantas medicinais testadas, em induzir o acúmulo de um complexo de pigmentos. A maior indução foi observada pelo tratamento com o patógeno *C. graminicola*, onde, provavelmente, se observa maior nível de reconhecimento e, portanto, maior ativação do metabolismo de defesa da planta. Os tratamentos com ultravioleta e *S. cerevisiae* mostraram baixa atividade elicitora, ao contrário do observado por Wulff & Pascholati (1998).

Com relação à síntese de gliccolina em cotilédones de soja (Tabela 1), pode-se observar que os extratos brutos de pitanga, cânfora, poejo, romã e cardo santo foram os mais efetivos, entre as plantas medicinais testadas, em induzir o acúmulo de gliccolina em cotilédones de soja. Os tratamentos com ultravioleta, *S. cerevisiae* e *C. graminicola* (não patógeno) também mostraram bons resultados.

3.2. Inibição da germinação de esporos: Houve 100% de inibição na germinação de conídios de *C. graminicola* em presença de todos os óleos essenciais testados (**Figura 8**). No tratamento controle, a porcentagem de germinação foi de 92%. Por outro lado, o extrato bruto aquoso de *E. citriodora* (**Tabela 2**) estimulou a germinação dos esporos, embora tenha reduzido entre 14 e 34% a formação de apressórios em concentrações do extrato acima de 10%. O apressório é uma estrutura necessária para penetração do patógeno no hospedeiro, de tal forma que a sua ausência implica em redução da porcentagem de infecção.

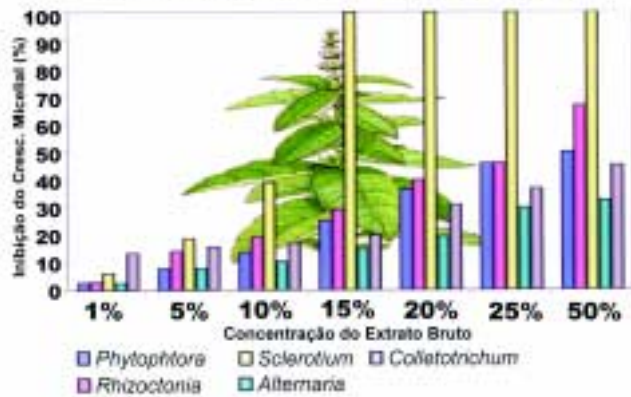
Figura 9. Inibição do crescimento micelial (%) de fungos fitopatogênicos em distintas concentrações de extrato bruto de *Ruta graveolens*



3.3. Inibição do crescimento micelial:

Os resultados para o ensaio com óleo essencial estão representados na **Tabela 3**. Houve 100% de inibição do crescimento micelial dos fungos testados em todas as alíquotas do óleo de manjerição (*O. basilicum*). Em óleo de carqueja (*B. trimeria*), houve crescimento de todos os fungos até a alíquota de 100 µl e inibição de 100% para as demais alíquotas (500 e 1000 µl). Em óleo de arruda (*R. graveolens*), apenas *A.*

Figura 10. Inibição do crescimento micelial (%) de fungos fitopatogênicos em distintas concentrações de extrato bruto de *Ocimum basilicum*



alternata apresentou crescimento micelial até a alíquota de 40 µl (inibição de 74%), havendo inibição de 100% no crescimento nas demais alíquotas.

Em presença do extrato bruto, *R. graveolens* (**Figura 9**) e *O. basilicum* (**Figura 10**) inibiram totalmente o crescimento micelial de *S. rolfsii* em concentrações acima de 10%. O extrato bruto de *B. trimeria* (**Figura 11**) apenas inibiu parcialmente o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos testados. A **Figura 12** ilustra o experimento no momento da avaliação.

3.4. Cromatografia de camada delgada:

No bioensaio para a detecção de compostos fungitóxicos presentes no extrato bruto das plantas medicinais, foi possível verificar a presença de frações nas quais houve inibição do desenvolvimento

de *C. graminicola* (**Figura 13**). Observou-se a presença de duas frações fungitóxicas bem definidas nos extratos de erva cidreira, e uma nos de cânfora e alfavaca. Uma pequena banda de inibição foi verificada nos extratos de orégano, mentrasto e alecrim. Os extratos de manjerona, mil-folhas, hortelã pimenta, cardo santo, romã, poejo, pitanga, babosa e goiabeira vermelha não apresentaram frações fungitóxicas.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As pesquisas realizadas *in vitro* indicam o potencial das plantas medicinais estudadas no controle de fungos fitopatogênicos e na indução de alguns mecanismos de defesa das plantas. No momento, as pesquisas estão sendo direcionadas para trabalhos *in vivo* utilizando-se patossistemas em feijoeiro, soja, pepino e sementes de cereais, com o objetivo de verificar a ocorrência de indução de resistência por meio do monitoramento da expressão dos sintomas da doença, bem como de outros mecanismos de defesa da planta hospedeira, como a formação de papilas ou a síntese de proteínas relacionadas à patogênese. O fracionamento cromatográfico e a caracterização de frações elicitoras, dosagem e intervalo de aplicação que sejam mais eficientes e que não provoquem fitotoxicidade fazem parte dessa etapa. O objetivo final é obter, através do óleo essencial ou, principalmente, do extrato bruto, uma tecnologia que possa ser repassada para pequenos produtores rurais, ou para aqueles interessados no "cultivo orgânico", onde formas alternativas de controle de doenças são necessárias. Por outro lado, além desses benefícios no controle fitossanitário, o produtor rural teria à sua disposição um novo produto para comercializar, que são as próprias plantas medicinais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYERS, A.R.; EBEL, J.; FINELLI, F.; BERGER, N.; ALBERSHEIM, P. Host-pathogen interactions. IX. Quantitative assays of elicitor activity and characterization of the elicitor present in the extracellular medium of cultures of *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. **Plant Physiology**, v.57, p.751-759, 1976.
- BENNETT, R.; WALLSGROVE, R.M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. **New Phytologist**, v.127, p.617-633, 1994.
- BETTIOL, W. (Ed.). **Controle Biológico de Doenças de Plantas**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1991. 388p. (EMBRAPA-CNPDA. Documentos, 15).
- BURDEN, R.J.; BAILEY, J.A. Structure of the phytoalexin from soybean. **Phytoche-**

mistry, v.14, p.1389-1390, 1975.

CIBA. CGA 245704. A plant activator for disease protection. Basel, CIBA Technical Data Sheet, 9p. 1995.

C O O K , R . J . ; BAKER, K.F. **The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens**. St. Paul: APS Press, 1983. 539p.

DI STASI, L.C. **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência – Um Guia de Estudos Multidisciplinar**. São Paulo: Ed. Universidade Paulista. 1996a. 215p.

DI STASI, L.C. Química de produtos naturais: principais constituintes ativos. In: DI STASI, L.C. (Ed.). **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência – Um Guia de Estudos Multidisciplinar**. São Paulo: Ed. Universidade Paulista. 1996b. p.109-127.

HAMMERSCHMIDT, D.; DANN, E.K. Induced resistance to disease. In: RECHCIGL, N.A.; RECHCIGL, J.E. (Ed.). **En-**

vironmentally Safe Approaches to Crop Disease Control. Boca Raton: CRC – Lewis Publishers, 1997, p.177-199.

HIJWEGWN, T.; VERHAAR, M.A.; ZADOKS, J.C. Resistance to *Sphaerotheca pannosa* in roses induced by 2,6-dichloroisonicotinic acid. **Plant Pathology**, v.45, p.631-635, 1996.

KIMATI, H.; GIMENEZ-FERNANDES, N.; SOAVE, J.; KUROZAWA, C.; BRIGNANI NETO, F.; BETTIOL, W. **Guia de Fungicidas Agrícolas – Recomendações por Cultura**, v.1, 2ª ed. Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia, 225p. 1997.

KUC, J. Systemic induced resistance. In: WALTERS, D.R.; SCHOLE, J.D.; BRYSON, R.J.; PAUL, N.D.; McROBERTS, N. (Ed.). **Aspects of Applied Biology 42: Physiological Responses of Plants to Pathogens**. Dundee: Association of Applied Biologists, 1995. p.235-242.

LO, L.C.; WEIERGANG, J.; BONHAM, C.; HIPSKIND, J.; WOOD, K.; NICHOLSON, R.L.

Phytoalexin accumulation in sorghum: identification of a methyl ether of luteolinidin. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.49, p.21-31, 1996.

LYON, G.D.; REGLINSKI, T.; NEWTON, A.C. Novel disease control compounds: the potential to “immunize” plants against infection. **Plant Pathology**, v.44, p.407-427, 1995.

MERCURE, E.W.; LEITE, B.; NICHOLSON, R.L. Adhesion of ungerminated conidia of *Colletotrichum graminiicola* to artificial hydrophobic surfaces. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.45, p.421-440, 1994.

MING, L.C. Coleta de plantas medicinais. In: DI STASI, L.C. (Ed.). **Plantas Mediciniais: Arte e Ciência – Um Guia de Estudos Multidisciplinar**. São Paulo: Ed. Universidade Paulista. 1996. p.69-86.

NICHOLSON, R.L.; KOLLIPARA, S.S.; VINCENT, J.R.; LYONS, P.C.; CADENAGOMEZ, G. Phytoalexin synthesis by the sorghum mesocotyl in response to infection by pathogenic and nonpathogenic fungi. **Proceedings of the National Academy Science**, USA, v.84, p.5520-5524, 1987.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de Fitopatologia - Princípios e Conceitos**. São Paulo: Ed. Agronômica Ceres, 1995. v.1. cap. 22, p.417-454.

PURKAYASTHA, R.P. Progress in phytoalexin research during the past 50 years. In: DANIEL, M.; PURKAYASTHA, R.P. (Ed.). **Handbook of Phytoalexin Metabolism and Action**. New York: Marcel Dekker, 1995, p.1-39.

Figura 11. Inibição do crescimento micelial (%) de fungos fitopatogênicos em distintas concentrações de extrato bruto de *Baccharis trimera*

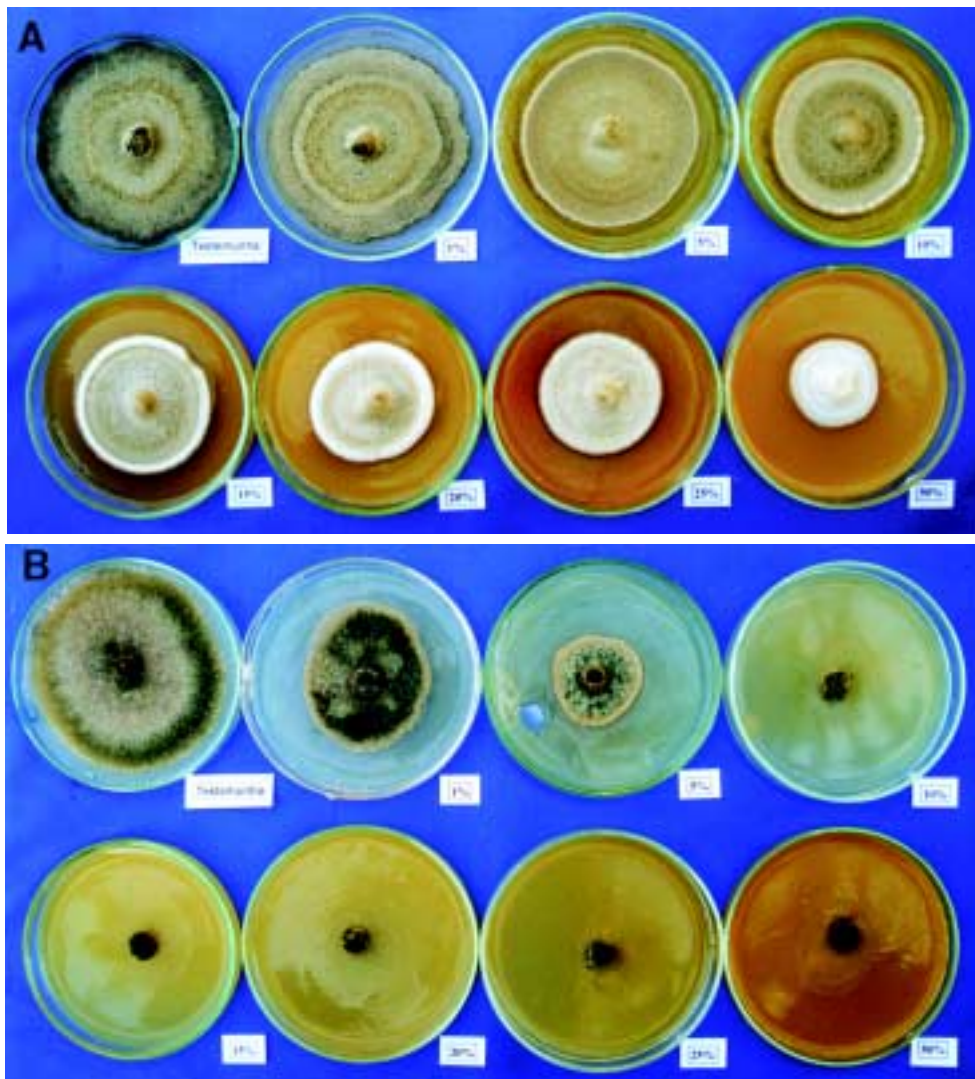
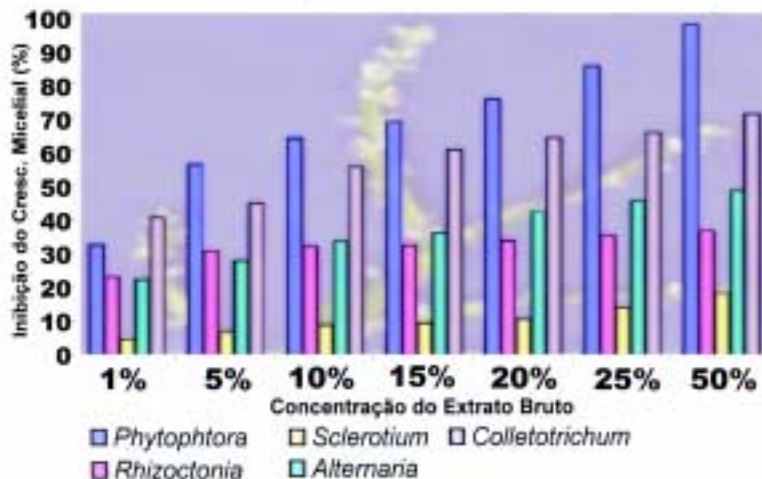


Figura 12 - Bioensaio para avaliar o efeito do extrato bruto de plantas medicinais sobre o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos *Alternaria solani* (A) e *C. graminicola* (B)

SILVA, I.; FRANCO, S.L.; MOLINARI, S.L.; CONEGERO, C.I.; MIRANDA NETO, M.H.; CARDOSO, M.L.C.; SANTIANA, D.M.G.; IWANKO, N.S. **Noções Sobre o Organismo Humano e Utilização de Plantas Mediciniais**. Cascavel: Assoeste. 1995. 203p.

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

STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Proteção de plântulas de milho pipoca contra *Exserohilum turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. **Summa Phytopathologica**, v.20, p.16-21, 1994.

WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S.F. Preparações de *Saccharomyces cerevisiae* elicitoras de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo. **Scientia Agricola**, v.55, n.1, p.138-143, 1998.

YAMAOKA, N.; LYONS, P.C.;

HIPSKIND, J.; NICHOLSON, R.L. Elicitor of sorghum phytoalexin synthesis from *Colletotrichum graminicola*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.37, p.255-270, 1990.

ZADOKS, J.C. Modern plant protection. Developments and perspectives. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R. (Ed.). Palestras do XXX Congresso Brasileiro de Fitopatologia. **Fitopatologia Brasileira**, p.16-26, 1997.

ZADOKS, J.C. The costs of change in plant protection. **Journal of Plant Protection**, v.9, p.151-159, 1992.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro e aos técnicos de laboratório Reinaldo Bernardo e de campo Delelmo Durante pelo auxílio nos trabalhos desenvolvidos.

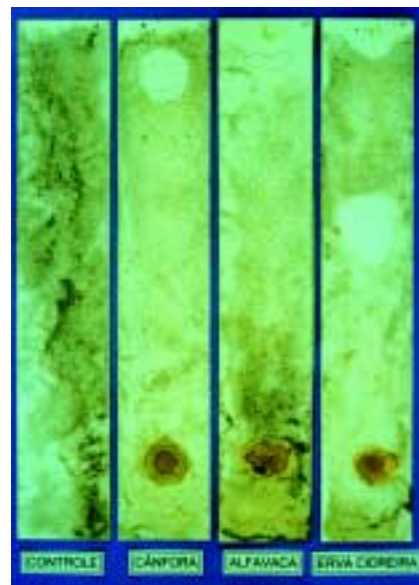


Figura 13 - Bioensaio com cromatografia de camada delgada para avaliar a presença de frações fungitóxicas no extrato bruto de plantas medicinais. As áreas claras indicam inibição do crescimento fúngico

Tabela 1 - Produção de fitoalexinas deoxiantocianidinas em mesocótilos de sorgo e gliceolina em cotilédones de soja após o tratamento com extrato bruto de plantas medicinais

PLANTA MEDICINAL ¹ (ou outros indutores) ²	DEOXIANTOCIANIDINA (ABS ₄₈₀ /g.p.f.) ³	GLICEOLINA (ABS ₂₈₅ /g.p.f.) ³	¹ Extrato bruto de plantas medicinais em concentração de 20% (peso/volume);
Orégano	0,97 ± 0,15	0,31 ± 0,01	² Outros indutores: luz ultravioleta (agente físico); <i>S. cerevisiae</i> e <i>C. graminicola</i> (agentes microbianos);
Cardo santo	0,72 ± 0,26	0,40 ± 0,01	
Hortelã	0,33 ± 0,03	0,26 ± 0,01	
Alecrim	0,54 ± 0,02	0,24 ± 0,01	
Mentraso	0,61 ± 0,04	0,30 ± 0,02	
Babosa	1,57 ± 0,55	0,36 ± 0,01	
Manjerona	1,56 ± 0,62	0,36 ± 0,01	
Erva cidreira	2,60 ± 0,02	0,33 ± 0,01	
Cânfora	0,76 ± 0,05	0,50 ± 0,01	
Pitanga	0,37 ± 0,05	0,54 ± 0,01	
Goiabeira vermelha	0,54 ± 0,03	0,29 ± 0,01	
Romã	3,50 ± 0,01	0,43 ± 0,01	
Alfavaca	0,32 ± 0,01	0,29 ± 0,01	
Mil folhas	0,36 ± 0,02	0,28 ± 0,01	
Poejo	0,27 ± 0,02	0,49 ± 0,01	
Luz ultravioleta	0,23 ± 0,01	0,46 ± 0,01	³ Valor de absorvância (480 nm ou 285 nm para deoxiantocianidina e gliceolina, respectivamente) por grama de peso fresco (g.p.f.) ± erro padrão da média.
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,91 ± 0,19	0,55 ± 0,01	
<i>Colletotrichum graminicola</i>	15,67 ± 0,91	1,04 ± 0,01	
Controle (H ₂ O)	0,21 ± 0,01	0,31 ± 0,01	

Tabela 3 - Efeito *in vitro* do óleo essencial das plantas medicinais *Ocimum basilicum*, *Ruta graveolens* e *Baccharis trimera* sobre o crescimento micelial dos fungos fitopatogênicos *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Alternaria alternata* e *Phytophthora* sp

PLANTA MEDICINAL	Alíquota (µl)	INIBIÇÃO DO CRESCIMENTO MICELIAL (%) ¹			
		<i>R. solani</i>	<i>S. rolfsii</i>	<i>A. alternata</i>	<i>Phytophthora</i> sp.
<i>B. trimera</i>	20	75	77	76	76
	40	80	85	85	85
	100	82	95	95	95
<i>R. graveolens</i>	20	100	100	45	100
	40	100	100	74	100

¹Avaliação realizada 3 dias após o início do experimento para *R. solani* e *S. rolfsii*, 4 dias após para *Phytophthora* sp. e 5 dias após para *A. alternata*. O valor de inibição é em relação ao diâmetro da colônia fúngica obtida no tratamento controle.

Tabela 2 - Efeito *in vitro* do extrato bruto aquoso da planta medicinal *Eucalyptus citriodora* sobre a germinação de esporos e formação de apressórios do fungo fitopatogênico *Colletotrichum graminicola*

Concentração do Estado Bruto (%) ¹	Porcentagem de Germinação ^{2,4}	Porcentagem de Apressórios ^{3,4}
1	29,5 ± 3,8	78 ± 4
5	41,5 ± 3,2	94 ± 5
10	44,5 ± 5,3	86 ± 6
20	59,5 ± 3,8	71 ± 2
50	57,5 ± 8,1	66 ± 3
Controle (H ₂ O)	24,0 ± 2,8	100 ± 0

¹Porcentagem: peso fresco de folhas por volume de solução;

²Foram considerados germinados os esporos que apresentavam comprimento de seu tubo germinativo pelo menos igual ao menor diâmetro do esporo;

³Porcentagem de apressórios calculada em relação ao número de esporos germinados;

⁴Valores representam a média de 100 contagens ± erro padrão da média.