

CAPACIDADE ANTIFÚNGICA DO EXTRATO VEGETAL DE *Ruta graveolens* SOBRE O DESENVOLVIMENTO DOS FUNGOS APODRECEDORES *Gloeophyllum trabeum* E *Pycnoporus sanguineus*

ANTIFUNGAL CAPACITY OF VEGETABLE EXTRACT OF *Ruta graveolens* ON THE DEVELOPMENT OF FUNGI HEADLINES *Gloeophyllum trabeum* E *Pycnoporus sanguineus*

CAPACIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRATO VEGETAL DE *Ruta graveolentes* SOBRE EL DESARROLLO DE HONGOS APODRECEDORES *Gloeophyllum trabeum* Y *Pycnoporus sanguineus*

Alessandra Simon Hüller¹
Elio José Santini²
Maiara Talgatti³
Amanda Grassmann da Silveira³
Guilherme Valcorte⁴
Laura Hoffmann de Oliveira⁴
Milene Goulart Estigarribia¹

31

Resumo: Metabólitos secundários de vegetais são compostos orgânicos produzidos pela própria planta como um mecanismo de sobrevivência as adversidades impostas pelo ambiente, essas substâncias podem apresentar poder taxológico, tornando-se uma alternativa para o controle de patógenos. *Ruta graveolens* L. conhecida como arruda, apresenta propriedades medicinais ao mesmo tempo que é descrita como perigosa por sua toxidez quando utilizada em altas dosagens. Desta forma, objetivou-se avaliar a capacidade antifúngica do extrato vegetal de *Ruta graveolens* sobre o desenvolvimento dos fungos apodrecedores *Gloeophyllum trabeum* e *Pycnoporus sanguineus*. Como resultado observou-se que o tratamento com 100% de ambas as concentrações apresentou valores de crescimento inferiores aos demais, diferenciando-se estatisticamente. Sendo assim, o extrato aquoso de arruda mostrou-se eficiente à inibição do crescimento micelial dos fungos.

Palavras-chave: Potencial antifúngico. Métodos alternativos. Crescimento micelial.

¹ Graduando em Engenharia Florestal. Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: alessandrahuller@gmail.com/milene.g.estigarribia@gmail.com

² Professor do Departamento de Ciências Florestais. Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: santini@ufsm.br

³ Doutorando em Engenharia Florestal. Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: maiara.talgatti@hotmail.com/amandagrassmann@gmail.com

³ Mestrando em Engenharia Florestal. Universidade Federal de Santa Maria. E-mail: gvalcorte@yahoo.com.br/laura-hoff@hotmail.com

Abstract: Secondary plant metabolites are organic compounds produced by the plant itself as a mechanism to survive the adversities imposed by the environment, these substances may present taxonomic power, becoming an alternative for the control of pathogens. *Ruta graveolens* L. known as rue presents medicinal properties at the same time as it is described as dangerous because of its toxicity when used in high dosages. In this way, the objective was to evaluate the antifungal capacity of the plant extract of *Ruta graveolens* on the development of rotting fungi *Gloeophyllum trabeum* and *Pycnoporus sanguineus*. As a result, it was observed that the treatment with 100% of both concentrations presented lower values of growth than the others, differing statistically. Thus, the aqueous extract of rue was efficient to inhibit fungal mycelial growth.

Keywords: Antifungal potential. Alternative methods. Mycelial growth.

Resumen: Los metabolitos secundarios de vegetales son compuestos orgánicos producidos por la propia planta como un mecanismo de supervivencia las adversidades impuestas por el ambiente, esas sustancias pueden presentar poder taxológico, convirtiéndose en una alternativa para el control de patógenos. *Ruta graveolens* L. conocida como arruda, presenta propiedades medicinales al mismo tiempo que es descrita como peligrosa por su toxicidad cuando se utiliza en altas dosis. De esta forma, se objetivó evaluar la capacidad antifúngica del extracto vegetal de *Ruta graveolens* sobre el desarrollo de los hongos podridos *Gloeophyllum trabeum* y *Pycnoporus sanguineus*. Como resultado se observó que el tratamiento con 100% de ambas concentraciones presentó valores de crecimiento inferiores a los demás, diferenciándose estadísticamente. Por lo tanto, el extracto acuoso de arruda se mostró eficiente a la inhibición del crecimiento micelial de los hongos.

Palabras-clave: Potencial antifúngico. Métodos alternativos. Crecimiento micelial.

Envio: 20/04/2019

Revisão: 22/04/2019

Aceite: 05/07/2019

32

Introdução

A demanda por madeira sólida aliada a escassez de espécies resistentes à deterioração biológica, direcionou o homem a utilizar espécies de rápido crescimento, provenientes de reflorestamentos, como algumas espécies de *Eucalyptus* e de *Pinus*. Estas possuem moderada ou nenhuma resistência ao ataque dos organismos xilófagos e necessitam de tratamentos preservantes (Paes et al., 2005).

A utilização de madeiras duráveis é uma preocupação atual da indústria madeireira e o mercado mundial, este que exige produtos com selo de qualidade, ao mesmo tempo em que obedecendo aos critérios de sustentabilidade. Atualmente os preservantes químicos oferecem maior eficiência no controle de fungos deterioradores, embora tais produtos necessitem de certificação para o seu uso. Em geral, os principais preservantes químicos de madeira utilizados são o creosoto, o pentaclorofenol, produtos à base de cobre, cromo e arsênio (CCA) e a base de cobre, cromo e boro (CCB) (Barillari, 2002).

Devido à resistência natural que algumas espécies estarem associadas aos extratos presentes nas mesmas, muitos estudos têm objetivado desenvolver produtos alternativos aos preservantes para madeira, utilizando os extrativos de plantas (Celoto et al., 2008) e de madeira. Entre os extrativos de plantas, estão os óleos essenciais de plantas aromáticas (Sbeghen, 2001), os extratos de plantas venenosas (Goktas et al., 2008) e os óleos extraídos das sementes/grãos. E, ainda, os extrativos da madeira como o tanino, os corantes, os óleos, as resinas, as ceras e os ácidos graxos. Isolados ou em combinação com solventes e outros aditivos, alguns produtos naturais podem ter bom desempenho na preservação da madeira (Gonzaga, 2006).

Subprodutos de plantas medicinais como extrato bruto e óleo essencial, apresentam em sua composição substâncias com propriedades fungicidas e/ou fungitóxicas (Venturoso et al., 2011). Esses compostos possuem a vantagem de serem geralmente menos prejudiciais ao homem e ao meio ambiente, de menores custos, facilmente disponíveis aos agricultores, e em alguns casos podem inclusive superar os produtos sintéticos em sua ação antimicrobiana (Stangarlin et al. 1999). Devido à grande riqueza química das plantas medicinais que possuem princípios ativos microbiocidas, elas se tornam fontes potenciais de moléculas que podem ser empregadas contra fitopatógenos (Rodrigues et al., 2006).

Ruta graveolens pertence à família Rutaceae, é conhecida como arruda, a espécie já vem sendo alvo de pesquisas que apontam uma grande quantidade de metabólitos secundários, tais como óleos voláteis, ácidos fenólicos, flavonoides e cumarinas presentes na planta (Salman et al., 2018). Os mesmos autores ressaltam a toxidez e potencial destes extratos no combate de microorganismos. Assim Oliva et al. (1999) sugerem um papel potencial para o extrato de arruda e seus aleloquímicos no controle de infecções fúngicas patogênicas.

Com isso, visando uma formação consciente em relação à preservação ambiental e, compreendendo a importância e necessidade de controles alternativos de fitopatógenos testando produtos naturais, objetivou-se avaliar a capacidade antifúngica do extrato aquoso de *Ruta graveolens* sobre o desenvolvimento dos fungos apodrecedores *Gloeophyllum trabeum* e *Pycnoporus sanguineus*.

O fungo *Pycnoporus sanguineus*

Um dos fungos causadores de podridão de madeiras é o *Pycnoporus sanguineus*, amplamente distribuído na natureza e encontrado em regiões de clima mais ameno e em florestas tropicais como a amazônica (Esposito et al., 1993). Conhecido popularmente como orelha-de-pau, sendo encontrado na madeira onde se fixam e dela se alimentam (Garcia, 2006), capaz de hidrolisar os polissacarídeos e a lignina de materiais lignocelulíticos (Teixeira et al., 1997), sendo causador da podridão branca.

O gênero *Pycnoporus* é dividido em quatro espécies: *Pycnoporus cinnabarinus*, nativo da zona temperada do hemisfério norte; *Pycnoporus coccineus*, que ocorre em vários países com fronteira nos oceanos Índico e Pacífico; *Pycnoporus sanguineus*, encontrado em regiões tropicais e subtropicais dos hemisférios norte e sul; e *Pycnoporus puniceus*, encontrado na África e na Índia (Uzan et al., 2011).

O uso empírico do *P. sanguineus* na medicina popular também é frequentemente citado por historiadores. A atividade antimicrobiana do *Pycnoporus sanguineus* já é conhecida desde 1946, quando Bose isolou e denominou o poliporin, substância ativa 2 contra bactérias gram-negativas e gram-positivas, sem toxicidade para os animais experimentais.

Os fungos são encontrados praticamente em qualquer local do ambiente, inclusive no ar na forma de esporos, podendo desenvolver novas estruturas quando encontram substrato adequado (Putzke & Putzke, 2004). Podem ser encontrados no solo, nas águas, sobre animais e vegetais, em alimentos naturais e industrializados (Bononi, 1999; Teixeira et al., 2001).

Apresentam seu corpo na forma de duas unidades básicas: a leveduriforme e a hifal (Trabusi & Altherthum, 2005). No formato de leveduras, as células são únicas, pequenas e delimitadas apresentando um único núcleo. As hifas são os filamentos que formam o micélio dos fungos, são longas células cilíndricas com vários núcleos ou septadas, onde cada célula pode ter vários núcleos; podem ser simples ou ramificadas (Sieveres, 1999).

O fungo *Gloeophyllum trabeum*

O mecanismo de degradação da madeira difere fundamentalmente entre fungos da podridão parda e branca. Em geral, os fungos da podridão parda removem seletivamente os compostos celulose e hemiceluloses, enquanto os fungos da podridão-branca causam a degradação de todos os componentes da madeira celular (Oliveira et al., 1986; Barreal, 1998). No entanto, o fungo da podridão-branca *Pycnoporus sanguineus* é um bom produtor de fenoxidase e degrada preferencialmente a lignina (Esposito et al., 1993).

Na avaliação da resistência biológica natural de *Aspidosperma desmanthum*, *Parinari excelsa*, *Mouriri callocarpa*, *Marmaroxylon racemosum*, *Peltogyne paniculata* e *Astronium* sp. madeiras para o fungo da podridão parda *G. trabeum* e fungo da podridão branca *Pycnoporus sanguineus*, foi fundado que a decadência causada pelo fungo da podridão parda era maior. As madeiras estudadas apresentaram perda de peso entre 1,97% e 12,2% quando decompostas para *G. trabeum*, e entre 0,05% e 3,21% para *P. sanguineus* após teste de decaimento acelerado de 6 semanas (Alves et al., 2006).

Segundo Lepage (1986), a madeira atacada por fungos de podridão parda apresenta-se em estágios iniciais ligeiramente escurecida, assumindo uma coloração pardo-escura à medida que o apodrecimento progride. A madeira atacada por estes fungos apresenta uma redução na sua massa específica, tornando-a mais permeável ao ataque de microrganismos e higroscópica, além de sua resistência ao impacto também ser diminuída.

Tratamentos preservativos na madeira

A madeira é conhecida por ser um material renovável e importante, mas que pode ser deteriorada por agentes biológicos, por reações químicas e outros agentes que causam prejuízos a ambos, produtores e consumidores, tanto no que se refere ao material como na mão-de-obra para substituí-lo (Moreshi, 2013). Dessa forma, destacam-se como os principais agentes biológicos causadores da maioria dos danos e perdas em estruturas de madeira os insetos, fungos, moluscos, crustáceos e bactérias, sendo os fungos e insetos os principais responsáveis pela maioria das perdas em vários tipos de produtos florestais.

Esses preservativos são produtos químicos capazes de provocar maior resistência ao ataque e desenvolvimento de organismos xilófagos através do envenenamento dos nutrientes celulares da madeira (Florian, 2011). Dentre os disponíveis no mercado o mais utilizado mundialmente é o Arseniato de cobre cromatado (CCA) devido a sua capacidade de proteger a madeira contra o ataque de fungos e insetos xilófagos (Lopes, 2012). Mesmo com a possibilidade de madeiras tratadas, nem sempre se torna viável ao proprietário adquiri-las. Frente a essa realidade, produtos alternativos estão sendo testados com a finalidade dessa substituição para melhorias ambientais e orçamentais.

O óleo de linhaça (*Linum usitatissimum*) é considerado um dos tratamentos naturais de melhor resultado por ser secativo, proporcionando boa impermeabilidade e proteção. Além do óleo de linhaça (Gonzaga, 2006), estudos têm revelado que combinações com cobrecromo (Treu et al., 2010) proporcionam melhores resultados de proteção. Outras fontes de estudo como preservantes para madeira são os óleos extraídos das sementes do nim (*Azadirachta indica* A. Juss) e de mamona (*Ricinus communis*). Todos os produtos à base de nim são completamente naturais, sendo atóxicos para os seres humanos, os animais domésticos e o meio ambiente. Frutos, sementes, óleo, folhas, cascas e raízes do nim possuem os mais variados usos antissépticos e antimicrobianos. Pesquisas mostram que o óleo de nim é eficaz contra fungos, parasitas, insetos, algumas bactérias e vírus (Araújo et al., 2000; Neves et al., 2003; Machado et al., 2006; Rahhal et al., 2007; Rodrigues et al., 2009; Paes et al., 2010). Já o óleo de mamona tem sido estudado para melhorar a persistência do óleo de nim na madeira, já que, após vinte dias em contato com o solo, o óleo de nim deteriora-se, dificultando seu emprego para o tratamento de madeira em que os princípios ativos das substâncias

empregadas para esta finalidade devem persistir por longo tempo nas peças tratadas (Araújo et al., 2000; Machado et al., 2006; Paes et al., 2007, 2010).

Pesquisas também apontam que a quitosana, um subproduto das indústrias de processamento de crustáceos (camarão, krill, caranguejo e lagosta), tem provado minimizar o ataque dos fungos, no entanto, poucos estudos têm sido realizados sobre a aplicação de quitosana para madeira (Eikenes et al., 2005; Singh et al., 2008; Treu et al., 2009; Sattolo et al., 2010).

Metodologia

Para a obtenção dos extratos, foram coletadas 15 g da parte aérea de mudas de *Ruta graveolens* para 1 L de água destilada, correspondendo a um extrato aquoso com 15% do vegetal, os quais em um béquer foi colocado à fervura por 1 hora. A amostra foi triturada em liquidificador por 1 minuto, e posteriormente filtrou-se o extrato em filtro de papel, descartando o resíduo. Após, o extrato foi submetido à esterilização em autoclave a 120 °C por 20 minutos.

O extrato foi incorporado ao meio batata, dextrose, ágar (BDA) nas concentrações 50% e 100%, misturando-os para total homogeneização. Estes meios, contendo o extrato vegetal foram vertidos em placas de Petri com 85 mm de diâmetro. A execução deu-se em duplicata, sendo obtidos extratos nas mesmas concentrações para testar os dois fungos. Após solidificação dos meios transferiu-se no centro das placas um disco micelial de 8 mm de diâmetro de *Gloeophyllum trabeum*, como também de *Pycnoporus sanguineus*. Para avaliar o crescimento dos fungos, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) contendo três tratamentos com cinco repetições cada, para ambos os fungos.

Os tratamentos foram duas concentrações do extrato vegetal (50% e 100%) mais uma testemunha, a qual continha apenas o meio BDA, sem adição de extrato. Estas placas foram armazenadas em estufa incubadora Biochemical Oxygen Demand (BOD) a 25°C no escuro. O crescimento micelial dos fungos foram avaliados a cada 24 h a partir da incubação, por 7 dias. As avaliações foram realizadas com auxílio de um paquímetro graduado em milímetros, sendo realizadas pelo método das medidas diametralmente opostas.

O índice de crescimento micelial (ICM) foi calculado pela fórmula apresentada na Equação 1.

$$ICM = \frac{C1}{N1} + \frac{C2}{N2} + \frac{C3}{N3} + \frac{Cn}{Nn}$$

(1)

Onde: C1, C2, C3, Cn = crescimento micelial das colônias na primeira, segunda, terceira e última avaliação; N1, N2, N3, Nn = número de dias.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e posteriormente submetidos ao teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Resultados e Discussão

Os valores do índice de crescimento micelial do fungo em relação a sua concentração encontram-se descritos na Tabela 1. Percebe-se que a adição do extrato reduziu o crescimento de ambos os fungos, nas duas concentrações testadas.

38

Tabela 1. Índice de crescimento micelial dos fungos *Gloeophyllum trabeum* e *Pycnoporus sanguineus* nas diferentes concentrações.

FUNGO	CONCENTRAÇÃO (%)	ICM
<i>Gloeophyllum trabeum</i>	0	67,93 b
	50	64,50 b
	100	57,45 a
<i>Pycnoporus sanguineus</i>	0	83,01 c
	50	66,79 b
	100	53,08 a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey à 5% de probabilidade.

A análise estatística indicou diferença significativa em nível de 5% de probabilidade entre o crescimento micelial dos fungos para as diferentes concentrações. Pode-se observar que os tratamentos com 100% do extrato apresentou maior poder inibitório, seguido pela concentração 50%. Sendo assim, o extrato aquoso de arruda mostrou-se eficiente à inibição do crescimento micelial, indicando potencial biopreservante.

Ao analisar crescimento micelial de *Cercospora calendulae*, apresentado por



Nascimento et al. (2013), os autores concluíram que extrato de arruda na concentração 10000 mg/L-1 gerou um efeito inibitório de 30%. Em outro trabalho, realizado por Stangarlin et al. (1999) mostra que foram encontrados alguns compostos no extrato da folha de arruda (*Ruta graveolens*) que apresentaram atividades de inibição de crescimento micelial e esporulação de fungos fitopatogênicos como *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* e *Alternaria alternata*.

Mesmo que os fungos citados sejam pragas agrícolas e não fungos decompositores da madeira, os dados corroboram com o presente estudo por confirmar o efeito fungicida do extrato, este que é perceptível até mesmo visualmente (Figura 1 e 2).

39

Figura 1. Crescimento micelial do fungo *Gloeophyllum trabeum*: A - testemunha; B - 50% extrato *Ruta graveolens*; C - 100% extrato *Ruta graveolens*.

Figura 2. Crescimento micelial do fungo *Pycnoporus sanguineus*: A - testemunha; B - 50% extrato *Ruta graveolens*; C - 100% extrato *Ruta graveolens*.

As imagens ilustram o potencial tóxico do extrativo aos fungos responsáveis pela podridão parda e podridão branca da madeira, enquanto a testemunha preencheu completamente a placa em sete dias, as placas contendo o extrativo tiveram um crescimento reduzido. Essa constatação pode ser observada desde a menor concentração (50%) tornando-se ainda mais expressiva com o aumento da dose para 100%.



Na natureza, extratos vegetais produzem compostos voláteis que podem inibir a germinação ou o crescimento de microrganismos, e também desencadeiam alterações no desenvolvimento de plantas e fungos (French, 1992). Com a obtenção destes resultados preliminares, pode-se inferir que o extrato de arruda possui alguma substância capaz de inibir o crescimento micelial, ou seja, a formação de hifas que originam o desenvolvimento fúngico, etapa essencial para o processo que originará o ciclo reprodutivo do patógeno.

Conclusão

A redução no crescimento micelial dos fungos *Gloeophyllum trabeum* e *Pycnoporus sanguineus* a partir do extrato aquoso de arruda evidencia a existência de compostos biologicamente ativos, com efeito fungitóxico. Porém manipulou-se um extrato aquoso com somente 15% do vegetal, para um controle mais rígido e eficiente verifica-se a necessidade de testar concentrações mais altas da espécie para a confirmação dos resultados e ajustes nas concentrações, buscando a mais eficiente.

40

Referências Bibliográficas

- ALVES M. V. S.; Costa A. F.; Espig D. S.; Vale A. T. Resistência natural de seis espécies de madeiras da região amazônica a fungos apodrecedores, em ensaios de laboratório. *Ciência Florestal* 2006; 16 (1): 17-26.
- ARAÚJO, L. V.; RODRIGUEZ, L. C. E.; PAES, J. B. Características físico-químicas e energéticas da madeira de nim indiano. *Scientia Forestalis*, n. 57, p. 153-159, jun. 2000.
- BARILLARI, C.T. Durabilidade da madeira do gênero *Pinus* tratada com preservantes: avaliação em campo de apodrecimento. 68 f. Dissertação (Mestrado em Recursos Florestais) – Esalq USP – Piracicaba, 2002.
- BARREAL J. A. R. *Patología de la madera*. Madri: Fundação Conde Del Valle de Salazar, Ediciones Mundi-Prensa; 1998.
- BONONI V. R.; Capelari M.; Maziero R.; Trufeem S. F. B. Cultivo de cogumelos comestíveis. *Ícone*. São Paulo, 1999, 206 p.
- BOSE SR. Antibiotics in a *Polyporus* (*Polystictus sanguineus*). *Nature* 1946:158, 292-296.
- 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.

EIKENES, M.; ALFREDSEN, G.; CHRISTENSEN, B. E.; MILITZ, H.; SOLHEIM, H. Comparasion of chitosans with different molecular weights as possible wood preservatives. **Jounal Wood Science**, n. 51, p. 387-394, 2005.

ESPOSITO, E.; INNOCENTINI-MEI, L. H.; FERRAZ, A.; CANHOS, V. P.; DURAN, N. Phenoloxidasas and hidrolases from *Pycnoporus sanguineus* (EUC-2050 strain): applications. **Journal of Biotechnology**, New York, v. 29, p. 219-228, 1993.

FLORIAN, A. Preservativos de madeira e suas características. Brasília, 2011.

FRENCH, R. C. Volatile chemical germination stimulators of rust and other fungal spores. **Mycologia** v. 84, p. 277 - 288, 1992.

GARCIA, T. A. Purificação e caracterização das lacases de *Pycnoporus sanguineus*. 2006. 126p. Tese (Doutorado em Biologia Molecular) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

GOKTAS, O.; MAMMADOV, R.; DURU, M. E.; OZEN, E. A research on the usage of extracts from a poisonous plant (*Ornithogalum alpigenum Spapf*) as a wood preservative. Abstracts / **Journal of Biotechnology**, n. 136S, p. S672, 2008.

GONZAGA, A. L. Madeira: uso e conservação. Brasília, DF: IPHAN / MONUMENTA. 246 p., 2006.

LEPAGE, E. S. **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo: IPT, 1986. v. 1. 342p.

LOPES, L. Q.; SANTOS, S. O. Tratamento preservativo de madeiras (Monografia). Faculdade de Pindamonhangaba. Pindamonhangaba. São Paulo.2012.

MACHADO, G. O.; CALIL JÚNIOR., C.; POLITO, W.; PAWLICKA, A. Preservante natural de madeira para uso na construção civil – óleo de neem. **Minerva**, v. 3, n.1, p. 1-8, jan./jun. 2006.

MORESCHI, J. C. BIODEGRADAÇÃO E PRESERVAÇÃO DA MADEIRA – **Biodegradação da madeira**. Departamento de Engenharia e Tecnologia Florestal da UFPR. 4ª Ed. Volume I. Abril de 2013.

NASCIMENTO, J. M.; SERRA, A. P.; BACCHI, L. M.; GAVASSONI, W. L.; VIEIRA, M. C. Inibição do crescimento micelial de *Cercospora calendulae* Sacc. por extratos de plantas medicinais. **Rev. Brasileira de plantas medicinais**, vol. 15, n. 4, p.751-756, 2013.

NEVES, B. P.; OLIVEIRA, I. P.; NOGUEIRA, J. C. M. Cultivo e utilização do nim indiano. **Circular Técnica – Embrapa**, n. 62, Santo Antônio de Goiás/GO, dez. 2003.

OLIVA, A.; LAHOZ, E.; CONTILLO, R.; ALIOTTA, G. Fungistatic activity of *Ruta graveolens* extract and its allelochemicals. **Journal of chemical ecology**, v. 25, n. 3, p. 519 - 526., 1999.

OLIVEIRA A. M. F. Agentes destruidores da madeira. Em: Lepage ES, editor. **Manual de preservação de madeiras** . São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas; 1986.

PAES, J. B.; DE SOUZA, A. D.; DE LIMA, C. R.; NETO, P. N. de M. Eficiência dos óleos de nim e mamona contra cupins xilófagos em ensaio de alimentação forçada. **Cerne**, Lavras, v.16, n.1, p. 105-113, jan./mar. 2010.

PAES, J. B.; DINIZ, C. E. F.; MARINHO, I. V.; LIMA, C. R. Avaliação do potencial tanífero de seis espécies florestais de ocorrência no semi-árido brasileiro. **Cerne**, Lavras, v.13, n.2, p. 160-169, abr./jun. 2007.

PAES, J. B.; MORESCHI, J. C.; J. G. LELLES. Avaliação do tratamento preservativo de moirões de *Eucalyptus viminalis* Lab. e de bracatinga (*Mimosa scabrella* Benth.) pelo método de substituição de seiva. **Ciência Florestal**, v.15, n.1, p. 75-86. 2005.

PUTZKE J.; Putzke M. T. L. **Os Reinos dos Fungos**. 2ªed. v.1. Ed. Edunisc, Santa Cruz do Sul, 2004. 605p.

RAHHAL, M. M. H.; ISMAIL, I. A.; RAHMOU, A. A. Efficacy of repeated spray of neem oil for control of gray mold disease of lentil plants caused by *Botrytis cinerea* and on some of the chemical components of lentil seeds. **Journal of Pest Control and Environmental Sciences**, v. 15, n. 1 p. 43-67, 2007.

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

RODRIGUES, M.; PAIVA, R.; NOGUEIRA, R. C.; MARTINOTTO, C.; SILVA JR, J. M. Morfogênese in vitro de nim a partir de explantes cotiledonares. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 33, n. 1, p. 21-26, 2009.

SALMAN, H. A., VENKATESH, S., SENTHILKUMAR, R., KUMAR, B. G., & ALI, A. M. Determination of antibacterial activity and metabolite profile of *Ruta graveolens* against *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. **Journal of laboratory physicians**, v. 10, n. 3, p. 320, 2018.

SATTOLO, N. M. S.; BRITTO, D. de; ASSIS, O. B. G. Quitosana como fungicida em madeiras *Pinus* sp. empregadas na confecção de caixas “K”. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 13, n. 2, p. 128-132, abr./jun. 2010.

SBEGHEN, A. C. Potencialidades de utilização de óleos essenciais de plantas aromáticas para controle de *Cryptotermes brevis*. 2001. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2001.

SIEVERS N.; Bertsch E.; Fischer R. Isolation of nuclear migration mutants of *Aspergillus nidulans* using GFP expressing strains. **Mycological Research** 1999; 103(8): 961-6.

SINGH, T.; VESENTINI, D.; SINGH, A. P.; DANIEL, G. Effect of chitosan on physiological, morphological, and ultrastructural characteristics of wood-degrading fungi. **International Biodeterioration & Biodegradation**, n. 62, p. 116-124, 2008.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biociência**, Brasília, v. 2, n. 11, p. 16 - 21, 1999.

TEIXEIRA H.; Chitarra L. G.; Arias S. M. S.; Machado J. C. Efeito de diferentes fontes de luz no crescimento e esporulação in vitro de fungos fitopatogênicos. **Ciência Agrotécnica** 2001; 25 (6): 1314-1320.

TEIXEIRA, D. E.; COSTA, A. F.; SANTANA, M. A. Aglomerados de bagaço de cana-de-açúcar: resistência natural ao ataque de fungos apodrecedores. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 52, p. 29-34, 1997.

TRABULSI L.R.; Altherthum F. **Microbiologia**. 4.ed. Atheneu, São Paulo. 2005. 718p.

TREU, A.; LARNOY, E.; MILITZ, H. Leaching of new environmental friendly wood protection agents. In: BERGSTEDT, A. **Proceedings of the 5th meeting of the NordicBaltic Network in Wood Material Science and Engineering**. Copenhagen: Denmark, 2009. n. 43, p. 33-40.

TREU, A.; MILITZ, E.; BREYNE, S. Royal-treatment-scientific background and practical application. In: CONFERENCE IN REINBEK, 22., 2001. Anais... Reinbek: University Göttingen, 2001.

UZAN E.; Portet B.; Lubrano C.; Milesi S.; Favel A.; Lesage-Meessen L.; Lomascolo A. *Pycnoporus* laccase-mediated bioconversion of rutin to oligomers suitable for biotechnology applications. **Appl Microbiol Biotechnol** 2011; 90(1): 97-105.

VENTUROSOSO, L. R. et al. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathologica**, São Paulo, v. 37, n. 1, p. 18-23, 2011.