

**ÓLEOS E EXTRATOS VEGETAIS NO
CONTROLE DA FERRUGEM-ASIÁTICA DA
SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill.)**

DANIELLA INES BORGES

2007

DANIELLA INES BORGES

**ÓLEOS E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA FERRUGEM-
ASIÁTICA DA SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill.)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientador

Prof. Dr. Eduardo Alves

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2007

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

Borges, Daniella Ines

Óleos e extratos vegetais no controle da ferrugem-asiática da soja
(*Glycine max* (L.) Merrill) / Daniella Ines Borges. – Lavras: UFLA, 2007.
99 p.

Orientador: Eduardo Alves
Dissertação (Mestrado) – UFLA
Bibliografia.

1. Soja – Ferrugem-asiática. 2. Óleos e extratos vegetais. 3. Controle alternativo. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.349425

DANIELLA INES BORGES

**ÓLEOS E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA FERUGEM-
ASIÁTICA DA SOJA (*Glycine max* (L.) Merrill.)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Agronomia, área de concentração em
Fitopatologia, para a obtenção do
título de "Mestre".

APROVADA em 29 de maio de 2007.

Prof. Dr. Mário Sobral de Abreu

UFLA

Prof. Dr. Pedro Milanez de Rezende

UFLA

Prof. Dr. Eduardo Alves

UFLA

(Orientador)

A minha querida vovozinha Lydia.

Apesar da distância, você sempre esteve no meu coração e em meus pensamentos. Ficava sempre imaginado o que estaria fazendo naquele momento, se estava bem, se estava sentindo minha falta...

Poderia ter esperado mais... foi embora muito cedo! Queria que ficasse comigo por toda a minha vida. Apesar de tudo, tenho certeza de que está muito feliz. Afinal, está ao lado da pessoa que sempre quis estar e isso que me conforta.

Os últimos momentos que passamos juntas valeram por tudo e por toda a minha vida; cada segundo ficará guardado no meu coração para sempre. Não se esqueça de mim, pois, mesmo de tão longe, eu ainda preciso de você!!!

Minha vozinha querida, quanta saudades... você está fazendo e fará sempre muita falta em minha vida.

É assim que dedico a você, minha linda, todo este trabalho e também tudo o que fui e o que serei a partir daqui.

Com todo meu amor eu me despeço aqui, minha "filha" querida.

DEDICO

*Aos meus queridos pais, Ronaldo Borges e Marlene Jorge Borges
(in memoriam).*

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

Ao meu Papai, pelo incentivo e apoio em todos os momentos; aos meus irmãos, Ronaldo e Raianny; a Terezinha; meus sobrinhos, Letícia e Leonardo e ao meu companheiro Thiago, por todo o carinho e amor oferecidos.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), em especial ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador, professor Eduardo Alves, por todo apoio, atenção e muita paciência durante o Mestrado.

Aos professores do Departamento de Fitopatologia, por todos os conhecimentos transmitidos.

Aos membros da banca examinadora.

Aos funcionários e técnicos do Departamento de Fitopatologia, em especial a Eliane, pela amizade e por toda a ajuda, e da Biblioteca Central, por todo o auxílio prestado, tanto no mestrado como durante a graduação.

Aos amigos da Fitopatologia, pela amizade e por tornar meus dias de trabalho mais felizes.

Ao querido amigo e fiel escudeiro Marcos, por toda ajuda oferecida, sempre disposto a colaborar, mesmo sob um calor quase que mortal dentro da casa de vegetação.

Aos meus queridos amigos de São Paulo (SP), de Lavras (MG) e da graduação e a tantos outros que sempre estiveram à minha disposição em todos os momentos.

A todos os membros da minha nova família.

A todos que, de uma forma ou de outra, colaboraram para o encerramento dessa etapa importante da minha vida e que, embora não citados aqui, não deixam de merecer meu profundo agradecimento.

BIOGRAFIA

DANIELLA INES BORGES, filha de Ronaldo Borges e Marlene Jorge Borges, nasceu em 28 de abril de 1978, em São Paulo, SP. Em sua maior parte, concluiu o ensino médio no Colégio da Polícia Militar, em São Paulo, SP. Em março de 1999, iniciou o curso de graduação em Engenharia Agrônoma na Universidade Federal de Lavras, concluindo-o em dezembro de 2003. Durante esse período, participou de diversos projetos de pesquisa no Departamento de Fitotecnia e, desde 2003, vem atuando juntamente ao Departamento de Fitopatologia em diversas áreas. Atuou também como bolsista da Embrapa-Café. Em março de 2005, iniciou o Mestrado em Agronomia, área de concentração Fitopatologia na UFLA, concluindo-o em maio de 2007.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO GERAL.....	i
ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1. Óleos e extratos vegetais no controle da ferrugem-asiática da soja.....	1
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	2
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	6
2.1 Histórico da ferrugem-asiática da soja.....	6
2.2 Etiologia.....	7
2.3 Classificação taxonômica dos agentes causais da ferrugem da soja....	8
2.4 Modo de penetração.....	8
2.5 Sintomatologia e epidemiologia da ferrugem-asiática da soja.....	9
2.6 Manejo da ferrugem-asiática da soja.....	10
2.7 Produtos alternativos no controle de doenças em plantas.....	11
2.8 Resistência varietal.....	13
2.9 A ultra-estrutura da interação patógeno-hospedeiro.....	16
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
CAPÍTULO 2. Efeito de extratos e óleos essenciais de plantas na germinação de urediniósporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i>.....	26
1 RESUMO.....	27
2 ABSTRACT.....	28
3 INTRODUÇÃO.....	29
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
4.1 Obtenção dos óleos essenciais e preparo dos extratos vegetais.....	30
4.2 Preparo da suspensão de urediniósporos.....	32
4.3 Teste <i>in vitro</i>	33

4.4 Delineamento experimental.....	33
4.5 Análise dos dados.....	33
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
6 CONCLUSÕES.....	45
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
CAPÍTULO 3. Severidade da ferrugem-asiática da soja em plantas tratadas com extratos vegetais em casa de vegetação.....	48
1 RESUMO.....	49
2 ABSTRACT.....	50
3 INTRODUÇÃO.....	51
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	53
4.1 Plantas utilizadas e plantio.....	53
4.2 Preparo dos extratos vegetais.....	53
4.3 Preparo do inóculo.....	53
4.4 Delineamento experimental e condução do experimento.....	54
4.5 Análises dos dados.....	54
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
5.1 Reação de plantas de soja, com diferentes níveis de resistência, sob o efeito de extratos de plantas, inoculadas com <i>Phakopsora pachyrhizi</i>	56
5.2 Efeito dos extratos vegetais sobre a ferrugem-asiática da soja, em plantas de soja com diferentes níveis de resistência.....	62
6 CONCLUSÕES.....	67
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	68
CAPÍTULO 4. Estudo do processo de germinação de urediniósporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i>, por meio da microscopia eletrônica de varredura.....	71
1 RESUMO.....	72
2 ABSTRACT.....	73
3 INTRODUÇÃO.....	74

4 MATERIAL E MÉTODOS.....	76
4.1 Plantas utilizadas e plantio.....	76
4.2 Preparo dos tratamentos.....	76
4.3 Preparo do inóculo.....	76
4.4 Condução do experimento.....	77
4.5 Preparação das amostras para microscopia eletrônica de varredura..	77
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
5.1 Germinação e formação do apressório de urediniósporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> inoculados em folhas de soja de MG/BR 46 e PI 230970.	79
5.2 Efeito de extratos vegetais na germinação e na formação do apressório de urediniósporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> , inoculados em folhas de soja de MG/BR 46 e PI 230970.....	82
6 CONCLUSÕES.....	85
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
6 CONCLUSÕES FINAIS	88
ANEXOS.....	90

RESUMO GERAL

BORGES, Daniella Ines. **Óleos e extratos vegetais no controle da ferrugem-asiática da soja (*Glycine max* (L.) Merrill.)**. 2007. 99p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

A agricultura atual tem aumentado o seu potencial de produção graças à aplicação de produtos químicos para o controle de pragas e de doenças de plantas, o que tem causado sérios prejuízos ao meio ambiente e à saúde do agricultor. A exploração da atividade biológica de compostos secundários de plantas pode constituir mais uma forma potencial de controle alternativo, reduzindo, assim, o impacto ambiental. Portanto, este trabalho teve por objetivo selecionar extratos e óleos essenciais vegetais para o controle da ferrugem-asiática da soja. Primeiramente, foram realizados testes *in vitro* com 61 extratos vegetais e 5 óleos essenciais, para avaliar o efeito desses na germinação de urediniósporos de *P. pachyrhizi*, sendo os extratos obtidos de *Tilia cordata*, *Pelargonium* sp., *Lavandula officinalis* e *Mentha pulegium* selecionados para os testes *in vivo*. Em casa de vegetação, esses extratos foram pulverizados em plantas de soja com diferentes níveis de resistência, a fim de avaliar o efeito na severidade e na produção de soros urediniais, causados pelo ataque do fungo. Dentre os itens avaliados, os tratamentos e a interação cultivar x tratamentos não apresentaram efeito significativo. Somente a variável cultivar, em que o PI 459025, com gene de resistência *Rpp4*, destacou-se, apresentando os melhores resultados comparada às demais. Na avaliação do número de soros urediniais, observaram-se diferenças significativas, tendo os extratos de *Pelargonium* sp. e *L. officinalis* apresentado resultados estatisticamente semelhantes ao tratamento com fungicida. Ainda, os mesmos extratos utilizados no teste em casa de vegetação foram avaliados por meio da microscopia eletrônica de varredura, em folhas destacadas da cultivar MG/BR 46 e do genótipo PI 230970, com gene de resistência *Rpp2*. As eletromicrografias mostraram diferenças na forma e no tamanho de esporos e apressório, sendo esta considerada uma característica do fungo. Quanto ao efeito dos extratos, nenhuma deformidade foi relatada; apenas para o genótipo PI 230970, a formação dos apressórios foi retardada. Para todos os tratamentos, foram observados esporos germinando e, posteriormente, a formação do apressório, exceto o tratamento com fungicida, em que a maioria dos esporos não germinou. Isso indica um possível modo de atuação dos extratos pós-penetração do fungo.

* Comitê de orientação: Eduardo Alves – UFLA (Professor Orientador); Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA.

GENERAL ABSTRACT

BORGES, Daniella Ines. **Vegetal oils and extracts in the control of the Asian rust of the soybean (*Glycine max* (L.) Merrill.)**. 2007. 99p. Dissertation (Master in Phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG. *

The current agriculture has increased its potential of production, as result of the application of chemical products for the control of plagues and disease of plants and this has caused serious damages to the environment and to the health of the agriculturist. The exploration of the biological activity of secondary composites of plants can consist in an additional potential form of alternative control, thus reducing the ambient impact. Therefore, this work aimed select vegetal extracts and essential oils, for the control of the Asian soybean rust of the soy. First of all, test *in vitro* were carried out with with 61 vegetal extracts and 5 essential oils, to evaluate the effect of these in the germination of urediniospores of *P. pachyrhizi*, being the extracts obtained of prudent *Tília cordata*, *Pelargonium* sp., *Lavandula officinalis* and *Mentha pulegium* selected for the tests *in vivo*. In green house, these extracts were sprayed in soybean plants, with different levels of resistance, in order to evaluate the effect in severity and production of uredinia sores, caused by the attack of fungus. Amongst the itens evaluated, the treatments and the interaction cultivar x treatments had not presented significant effect, only the variable cultivate, where the PI 459025, with resistance gene *Rpp4*, was distinguished, presenting the best resultes when compared with the others. In the evaluation of the number of uredinia significant differences had been observed, being that the extracts of *Pelargonium* sp. e *L. officinalis* had presented statistically similar resultes to the treatment with fungicide. In addition, the same extracts used in the test at the green house, were evaluated through Scanning Electron Microscopy, in leaves detached of the cultivar MG/BR 46 of the genotype PI 230970, with a gene of resistance *Rpp2*. The eletromicrographs done had shown differences in the form and sizes of esporos and appressoria, being this considered a characteristic of the fungus. Concerning the effect of the extracts, no deformity was found, only for the genotype PI 230970, the formation of the appressoria was delayed. For all the treatments, had been observed spores germinating and later on the formation of the appressoria, except at the treatment with fungicide, where the majority of the spores did not germinate. This indicates a possible way of performance of the extracts after-penetration of the fungus.

* Advising Committee: Eduardo Alves – UFLA (Major Professor); Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA.

CAPÍTULO 1

ÓLEOS E EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA FERRUGEM ASIÁTICA DA SOJA (*Glycine max*(L.) Merrill.)

1 INTRODUÇÃO GERAL

Entre os produtos agrícolas, a soja vem ocupando uma posição de crescente destaque e extraordinária expansão (Miyasaka & Medina, 1981). Seu local de origem não é definitivamente conhecido, havendo discordância entre os autores. Todos indicam, no entanto, que o centro é o leste da Ásia. Segundo Morse (1950), o local seria a área central da China, enquanto Hymowitz (1970) afirma que ela foi domesticada na metade norte da China, por volta do século XI a.C.

No Brasil, a primeira referência encontrada na literatura data de 1882, realizada por D'utra, relatando o seu cultivo no estado da Bahia (Bonetti, 1981). Durante muitas décadas, a soja foi plantada em caráter experimental e somente na segunda metade do século XIX começou a ganhar projeção (Caruso, 1996). O maior ritmo de expansão da cultura ocorreu na década de 1970, quando o agricultor foi altamente motivado a substituir outras culturas pela soja e a expandir suas áreas exploradas em razão das altas cotações do produto no mercado internacional. Assim, a produção cresceu rapidamente até 1980, apesar de oscilações devido a problemas climáticos (Bonato & Bonato, 1987).

O cultivo da soja foi um dos responsáveis pelo surgimento da agricultura empresarial no Brasil, além de ser a grande responsável pela aceleração da mecanização das lavouras brasileiras, pela modernização do sistema de transporte, pela expansão da fronteira agrícola e pela aceleração da urbanização do país (Embrapa, 2001).

Dentre as principais oleaginosas cultivadas no mundo, a soja participa com pouco mais de 50% da produção total. Entre suas principais utilidades estão o suprimento da demanda mundial de óleos vegetais e a produção de ração para a alimentação de bovinos, suínos e aves (Olic, 2001). Faz também parte da

alimentação humana, por ser rica em proteínas, ácidos graxos (isoflavonas) e por apresentar diversos efeitos fitoterápicos (prevenção de diversas doenças).

As pesquisas com o biodiesel têm se intensificado. Esse combustível é produzido a partir de óleos vegetais extraídos de diversas matérias-primas, como palma, mamona, soja e girassol, dentre outras e, por advir de fontes renováveis e ser menos poluente, ele é ecologicamente correto (Petrobrás, 2007).

As áreas com maior potencialidade de crescimento na produção de soja, situam-se entre os paralelos de 20° de latitude Sul e 20° de latitude Norte. Dada essa localização preferencial, as possibilidades de expansão produtiva da soja encontram no Brasil condições praticamente ideais, não só em função de aspectos naturais favoráveis (especialmente topográficos e climáticos), mas também por conta da disponibilidade de terras e de meios tecnológicos (Olic, 2001).

A produção nacional de grãos, na safra 2006/07, ultrapassou 130 milhões de toneladas e a cultura da soja ocupa o primeiro lugar no ranking dentre os grãos produzidos, com quase 58 milhões de toneladas. Em comparação à safra anterior (05/06), a área cultivada decresceu 6,9% (1,5 milhão de hectares), enquanto a produtividade cresceu 16,6%, resultando na elevação da produção em torno de 8,6% (10 milhões de toneladas). Apesar da redução da área cultivada, o aumento na produtividade é fruto de condições climáticas favoráveis, aliadas ao plantio em áreas mais produtivas (Conab, 2007).

O Mato Grosso é o maior estado produtor brasileiro, com cerca de 5 milhões de hectares de área plantada, resultando em uma produção com pouco mais de 15 milhões de toneladas, seguido pelos estados do Paraná e Rio Grande do Sul. Em Minas Gerais, a área plantada foi reduzida, comparada à safra de 2005/06, mas a produção manteve-se em 2,6 milhões de toneladas na safra de 2006/07 (Conab, 2007).

Dentre os fatores limitantes do rendimento, da lucratividade e do sucesso da produção, estão as doenças. Mais de 40 doenças causadas por fungos, bactérias, nematóides e vírus já foram identificadas no Brasil. Esse número continua aumentando com a expansão da soja para novas áreas e como consequência da monocultura (Yorinori & Paiva, 2002). A importância econômica de cada doença varia de ano para ano e de região para região, dependendo da condição climática de cada safra. Em âmbito nacional, o valor das perdas anuais por doenças é estimado em cerca de US\$ 2 bilhões (Yorinori, 1986).

Na safra 2001/2002, uma epidemia de ferrugem asiática da soja foi detectada desde o Rio Grande do Sul até o Mato Grosso, causando perdas significativas em lavouras isoladas. Atualmente, representa a maior ameaça potencial, preocupando tanto a pesquisa quanto os produtores. Os estados de Minas Gerais e Mato Grosso foram os primeiros a registrar a ocorrência da ferrugem asiática, na safra de 2006/2007 (Embrapa, 2006).

A disseminação da doença, seja para lavouras vizinhas ou a longas distâncias, ocorre por meio do vento. Existe uma suposição de que os esporos do fungo tenham vindo dos países do sul da África, atravessando o Oceano Atlântico em direção ao continente americano (Andrade & Andrade, 2002).

O controle da ferrugem da soja compreende diversas medidas conjuntas. Quando a doença já está ocorrendo, o controle químico com fungicida é, até o momento, o principal método de controle (Soares et al., 2004). Ainda não se encontram, entre as cultivares recomendadas, materiais com bom nível de resistência, o que se deve, em parte, à recente ocorrência da doença no país, mas também ao fato de o fungo *P. pachyrhizi* possuir diversas raças com genes múltiplos de virulência (Sinclair & Hartman, 1995).

O uso indiscriminado de fungicidas tem causado danos ao meio ambiente, aos seres vivos e tem favorecido a seleção de raças resistentes de patógenos a essas substâncias químicas (Ghini & Kimati, 2000). Essa restrição

ao uso de fungicidas tem levado à procura de métodos alternativos de controle, tais como o uso de biofungicidas.

No cultivo caracterizado como sustentável ou alternativo, buscam-se novas medidas de proteção das plantas contra doenças. Um dos enfoques da agricultura alternativa é o controle alternativo de doenças, o qual inclui o controle biológico e a indução de resistência em plantas (Bettiol, 1991) e produtos naturais menos tóxicos ao ambiente.

Diversos trabalhos mostram o potencial de plantas medicinais e da flora brasileira no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela capacidade de induzir o acúmulo de fitoalexinas (Schwan-Estrada et al., 1997; Stangarlin et al., 1999), indicando a presença de moléculas com características eliciadoras.

O cultivo e a comercialização de produtos orgânicos tiveram um crescimento acentuado nos últimos cinco anos. A cada dia cresce o número de produtores certificados no país, de tal forma que o número de produtores de agricultura orgânica deve triplicar nos próximos anos (Penteado, 2007).

Diante do exposto, considerando a importância da cultura da soja e as perdas decorrentes do ataque da ferrugem, assim como as limitadas medidas de controle, sem prejuízo ao meio ambiente, o objetivo deste trabalho foi utilizar óleos e extratos vegetais como controle alternativo da ferrugem-asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, “in vitro” e em casa de vegetação, avaliando, por meio da microscopia eletrônica de varredura, o possível modo de atuação desses produtos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Histórico da ferrugem-asiática da soja

O primeiro relato de *P. pachyrhizi* foi feito em 1902, no Japão. Em 1934, o patógeno foi detectado em outros países asiáticos, causando uma série de epidemias e, depois, foi encontrado na Austrália (Bromfield & Hartwig, 1980).

No Brasil, a ferrugem-asiática da soja foi relatada, pela primeira vez, em Minas Gerais, em diversas leguminosas (*Lab lab purpureus*, *Phaseolus vulgaris*, e *Neonotonia wightii*), por Deslandes (1979) e, por meio de técnicas moleculares, foi confirmado, por Akamatsu et al. (2004), que se tratava do fungo *P. pachyrhizi*. Entretanto, epidemias dessa doença não foram observadas na época.

A primeira epidemia na América do Sul ocorreu em fevereiro de 2001, no Paraguai, sendo encontrada nas áreas limítrofes entre o Brasil e aquele país (Reis & Bresolin, 2004). Em 2002, a ferrugem-asiática da soja foi difundida ao longo do Paraguai e de algumas áreas do Brasil, com relatos de severos danos em alguns campos, em ambos os países (Morel & Yorinori, 2002). Naquele mesmo ano, o patógeno foi detectado no norte da Argentina (Rossi, 2003). Na safra 2003, causou perdas de 3,4 milhões de hectares, nas regiões produtoras, no Brasil (Yorinori & Lazzarotto, 2004).

Os Estados Unidos, até a safra de 2003/04, eram o único país produtor no mundo onde a ferrugem da soja não havia sido detectada (Morel & Yorinori, 2002). Porém, na safra de 2004/05, ela foi relatada como ocorrendo no estado da Louisiana (APHIS, 2004).

Além dessas regiões, o agente etiológico da ferrugem-asiática pode ser encontrado em diversos países, tais como Austrália, Rússia, Coreia, Japão,

China, Taiwan, Filipinas, Nepal, Índia, Nigéria, Moçambique, Ruanda, Uganda, África do Sul, Zâmbia e Zimbábue.

2.2 Etiologia

A soja é infectada por duas espécies do fungo *Phakopsora*, agente causal da ferrugem: a *Phakopsora meibomia*, proveniente do continente americano, ocorrendo desde o Porto Rico, no Caribe, até o sul do Paraná, em Ponta Grossa. Raramente causa danos econômicos e ocorre em temperaturas amenas, abaixo de 25°C, com alta umidade. No Brasil, está presente no Cerrado, em altitudes superiores a 800m e na região Sul.

A segunda espécie mais agressiva é a *Phakopsora pachyrhizi*, presente na maioria dos países asiáticos, na Austrália, na África (Zâmbia, Zimbábue e África do Sul) e ausente nas Américas até a safra de 1999/00. Esta espécie chega a reduzir drasticamente os rendimentos e a sua rápida expansão vem causando severas perdas no campo. De acordo com trabalho realizado por Ono et al. (1992), é possível separar as duas espécies de *Phakopsora* infectando soja com base em diferenças na espessura da camada apical dos teliósporos e no número de camadas destes. Segundo Yorinori & Lazzarotto (2004), a diferenciação pode ser também feita por análise do DNA, seguindo metodologia desenvolvida por Frederick et al. (2002), sendo essa técnica mais utilizada ultimamente.

Além da soja, o fungo tem como hospedeiros alternativos cerca de 95 espécies, em 42 gêneros da família Fabaceae. Em um bioensaio, com o objetivo de relatar possíveis hospedeiros alternativos por inoculação artificial, Moraes et al. (2006) identificaram que a fava (*Phaseolus lunatus*), o guandu (*Cajanus cajan*) e a soja perene (*Neonotonia wightii*) são hospedeiros de *P. pachyrhizi*, podendo ser fonte de inóculo para futuras infestações na cultura da soja.

2.3 Classificação taxonômica dos agentes causais da ferrugem da soja

O agente causal da ferrugem da soja é classificado do seguinte modo:

Reino: Fungi

Filo: Basidiomycota

Classe: Urediniomycetes

Ordem: Uredinales

Família: Phakopsoraceae

Gênero/espécie: *Phakopsora pachyrhizi* H. Sydow & P. Sydow

Phakopsora meibomia (Arthur) Arthur

2.4 Modo de penetração

A principal forma de penetração dos fungos causadores de ferrugem é via aberturas naturais (Hart, 1931; Littlefield & Aronson, 1970; Moldenhauer et al., 2006). A penetração via estômatos, por tubos germinativos formados a partir dos urediniósporos, é o modo mais comum, entretanto, a penetração direta na cutícula da folha já foi observada em três ferrugens: *Puccinia psidii*, *Ravenelia humphreyana* (Hunt, 1983) e *P. pachyrhizi* (Kitani & Inoue, 1960; Keogh, 1974). Koch et al. (1983), estudando a penetração desse fungo originado da Ásia, verificaram penetração direta no lúmen da célula. Entretanto, Zambenedetti Magnani et al. (2007) contataram que, para *P. pachyrhizi*, no Brasil, a penetração ocorre, principalmente, na junção das células de epiderme e não no centro ou lúmen das células, como era mencionado na literatura.

Bonde et al. (1976) verificaram que *P. pachyrhizi* germina em folhas de soja 1 a 2 horas após a inoculação, em câmara de nevoeiro, a 20°C, no escuro. Os apressórios começam a se desenvolver com 2 horas e, com 5 horas, muitos tinham atingido crescimento próximo ao tamanho dos urediniósporos. De acordo com Yorinori (2002), à temperatura próxima a 30°C, o desenvolvimento dos tubos germinativos é inibido.

O apressório é freqüentemente sésil ao urediniósporos. Da base do apressório, desenvolve um *peg* de penetração que penetra sempre na junção das células da epiderme. Uma vez dentro da célula, o *peg* de penetração expande-se para formar a vesícula transepidermal e as hifas primárias começam a ser formadas; espalhando-se pelos espaços intercelulares do parênquima esponjoso, atravessa a célula da epiderme e emerge no espaço intercelular e no tecido do mesófilo (Zambenedetti, 2005).

Ainda, de acordo com Zambenedetti Magnani et al. (2007), 48 horas a partir das hifas primárias, desenvolvem-se as hifas secundárias. Posteriormente, a maturação dos soros urediniais e o conseqüente início da produção de urediniósporos ocorreram entre o 6º e o 12º dia após a inoculação.

2.5 Sintomatologia e epidemiologia da ferrugem-asiática da soja

A manifestação inicial da ferrugem da soja é o surgimento de uma clorose, principalmente nas folhas, podendo ocorrer nos pecíolos, nos caules e nas vagens (Tschanz, 1989).

Os sintomas mais comuns da ferrugem-asiática são lesões, também chamadas de soros urediniais, de coloração palha (tipo TAN) a marrom-escura ou marrom-avermelhada (tipo RB), nas são liberados os urediniósporos que são disseminados pelo vento e pela chuva (Bromfield, 1976; Andrade & Araripe-Andrade, 2002). Essas lesões podem assumir formato poligonal e eventualmente atingem tamanho de 2-5 mm² (Tschanz, 1989).

Os sintomas iniciais da ferrugem podem ser facilmente confundidos com as lesões iniciais de mancha-parda ou septoriose (*Septoria glycines*), como também com a pústula bacteriana, causada por *Xanthomonas campestris* pv. *Glycines*. Em infecções mais avançadas, podem ser confundidas com crestamento de *Cercospora kikuchii* (Zambenedetti, 2005).

Segundo Sinclair & Backman (1989), as epidemias mais severas de ferrugem foram observadas em áreas onde as temperaturas médias diárias são menores que 28°C, com precipitações ou longos períodos de molhamento foliar ocorrendo por toda safra. Os urediniósporos germinam entre três e seis horas, sob temperaturas de 14°C a 29°C, porém, a germinação e a penetração no tecido da folha podem ocorrer à temperatura variando de 8°C a 28°C (Sinclair & Hartman, 1999). A progressão da doença é interrompida em temperaturas maiores que 30°C ou menores que 15°C, tanto em umidade excessiva como em condições secas.

Em condições de casa de vegetação, sob ausência de luz e a 20°C, urediniósporos de *P. pachyrhizi* iniciaram a germinação em uma hora e meia a partir do momento em que se iniciou o orvalho, atingindo o máximo após seis a sete horas. Após oito horas de orvalho e sob temperaturas de 18°C a 26,5°C, a quantidade de lesões resultantes foi dez vezes maior do que após seis horas, sob as mesmas temperaturas. O surgimento das primeiras lesões ocorreu sete dias após a inoculação e a produção de urediniósporos secundários iniciou-se aos nove dias (Melching et al., 1979). De acordo com Godoy & Canteri (2004), as primeiras lesões podem ser visíveis cinco a seis dias após a inoculação e as primeiras frutificações (soros urediniais) podem ser visíveis seis a sete dias após a inoculação.

2.6 Manejo da ferrugem-asiática da soja

O desenvolvimento da doença resulta da interação planta suscetível, patógeno virulento, ambiente favorável e interferência do homem. Entre os fatores ambientais, a temperatura e a umidade, na superfície das folhas, são os mais importantes para o início do desenvolvimento da doença (Agrios, 2005).

A ocorrência da ferrugem da soja é imprevisível. Assim, a incidência e a severidade dependem das condições climáticas e da proximidade da fonte de

inóculo, o que pode variar de ano para ano. Portanto, é muito importante realizar uma constante vigilância e também uma contínua capacitação na identificação precoce da doença, não permitindo descuidos ou falhas no manejo da cultura e nas estratégias adotadas, já que a doença pode causar perda total da produção.

Tendo em vista a falta de cultivares resistentes, associada à variabilidade do fungo e à possível presença do inóculo em soja “safrinha”, o controle químico é mais eficaz e imediato. Todavia, em diversas propriedades, na safra 2005/06, essa eficácia não foi viabilizada por falhas técnicas, pelo elevado número de aplicações e pela inadequação (alta densidade) das lavouras que reduziram a eficiência da cobertura foliar pelos fungicidas (Yorinori, 2006).

Ainda, o manejo das doenças de plantas deve ser empregado para reduzir os danos provocados a níveis economicamente aceitáveis, sem prejuízos para os agroecossistemas, mantendo seu equilíbrio (Zambolim, 1995).

2.7 Produtos alternativos no controle de doenças em plantas

Com o desenvolvimento de fitopatógenos cada vez mais resistentes aos agroquímicos, pesquisas têm sido realizadas com o intuito de buscar formas alternativas e seguras de controle de pragas e doenças. Considerando o aspecto econômico e a própria saúde humana, investigações a respeito da atividade biológica de extratos, assim como os óleos essenciais, têm sido pesquisadas com a finalidade de substituírem com segurança os pesticidas, inseticidas e fungicidas (Amorin, 2003).

De acordo com Koller & Sheeinflug (1987), fungicidas sistêmicos têm alto grau de especificidade, inibindo somente um ou poucos sítios específicos no patógeno. Nesse caso, é mais comum o aparecimento de resistência, pelo fato de o aparecimento de mutação em apenas um gene ser suficiente para diminuir a eficácia do fungicida. Por outro lado, extratos vegetais e óleos essenciais são

substâncias complexas que podem apresentar mais de um modo e sítio de atuação.

A agricultura orgânica, um dos sistemas alternativos que evitam ou excluem o uso de agroquímicos, tem se expandido em todo o mundo. O Brasil ocupa a segunda posição na América Latina, em área manejada organicamente, com estimativa de 800 mil hectares cultivados nesse sistema (Willer & Yussefi, 2005).

A exploração da atividade biológica de compostos secundários, como os óleos essenciais, pode se constituir, ao lado da indução de resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (Schwan-Estrada et al., 2003).

Diversos trabalhos com extratos brutos ou óleos essenciais, obtidos de plantas medicinais da flora nativa, têm indicado seus potenciais no controle de fitopatógenos, tanto por ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de compostos de caráter eliciador (Schwan-Estrada et al., 2003). Dentre essas plantas, estão *Allium sativum* (alho), *Rosmarinus officinalis* (alecrim), *Artemísia camphorata* (cânfora) e *Cymbopogon citratus* (capim-limão) (Schwan-Estrada et al., 2003).

Diniz et al. (2000), utilizando diferentes óleos essenciais em placas para verificar o desenvolvimento de *Sclerotinia minor*, concluíram que óleos essenciais de tomilho, estragão, manjerição-roxo, manjerona e *Menta citrata* foram capazes de inibir o crescimento micelial do referido fungo.

Salustiano et al. (2006), utilizando óleo, extrato e chá das folhas de *Eremanthus erythropappus* (candeia), conseguiram inibir, em 100%, a germinação de urediniósporos de *Hemileia vastatrix*, *Phakopsora pachyrhizi* e *Cerotelium fici*.

O óleo essencial de três espécies de eucalipto (*Eucalyptus* sp.), na concentração de 500 ppm, foi efetivo na inibição do crescimento micelial de *Botrytis*, *Fusarium* e *Bipolaris* (Salgado, 2001).

O efeito do óleo de *Piper aduncum* foi testado sobre o crescimento micelial de diferentes fungos fitopatogênicos. Nas concentrações de 50 e 100 µg/mL do óleo, causou 100% de inibição no crescimento e na germinação, respectivamente, de basidiósporos de *C. perniciosa* e também foi igualmente efetivo na inibição de *Phytophthora palmivora* e *Colletotrichum gloesporioides* (Bastos, 1997). Esse mesmo óleo foi testado em *Colletotrichum musae*, *in vitro*. Na concentração de 150 µg/mL, o óleo inibiu em 100% o crescimento micelial (Bastos & Albuquerque, 2004).

Becker et al. (2004), utilizando diversos extratos vegetais contra doenças de final de ciclo da cultura da soja, obtiveram como resultado um aumento do peso total da parcela com o extrato purificado de cúrcuma e um maior peso de 100 sementes para o extrato de alecrim.

Medice et al. (2007) verificaram que *Corymbia citriodora* (eucalipto citriodora), *Cymbopogon nardus* (citronela), *Azadirachta indica* (nim) e *Thymus vulgaris* L (tomilho), nas concentrações 1%, 0,5%, 1% e 0,3 %, respectivamente, foram capazes de inibir a germinação de *P. pachyrhizi in vitro* e de reduzir a severidade da ferrugem entre 34,3% e 62,6%, em casa de vegetação.

2.8 Resistência varietal

Segundo Plank, (1968), a resistência de plantas a doenças pode ser classificada em: resistência vertical ou específica, capaz de atuar com grande eficiência sobre raças específicas do patógeno e a resistência horizontal, inespecífica ou de campo, caracterizada por ser ativa contra todas as raças do patógeno, embora com eficiência inferior e podendo ser afetada por fatores ambientais.

Os dois tipos de resistência, a horizontal e a vertical, são observados entre os genótipos de soja (Bromfield & Hartwig, 1980). A vertical é a mais utilizada devido à facilidade de ser trabalhada, mas tem sido quebrada com facilidade, indicando a presença de raças do fungo. Por isso, a obtenção de cultivar de soja resistente à ferrugem asiática é um grande desafio para a pesquisa. Já a horizontal envolve a redução na taxa de desenvolvimento da doença, sendo mais efetiva contra um número maior de raças do patógeno. Entretanto, a quantificação desse modo de resistência é mais difícil, limitando sua utilização (Tschanz & Wang, 1985).

Devido aos entraves causados pelos dois tipos de resistência, outros métodos têm sido utilizados, com o objetivo de evitar reduções de produtividade devido à ocorrência da doença, dentre eles o estudo de tolerância de cultivares. Segundo Schafer (1971), tolerância pode ser definida como a capacidade da planta suportar o desenvolvimento do patógeno, sem apresentar redução significativa na produtividade ou na qualidade do produto. Desse modo, quanto menor a perda, maior o nível de tolerância. Epidemiologicamente, tolerância e resistência são conceitos diferentes (Vanderplank, 1963), podendo a tolerância ser classificada como uma resistência aparente (Agrios, 2005).

Existem relatos de genes dominantes para resistência à ferrugem, denominados *Rpp1*, *Rpp2*, *Rpp3* e *Rpp4*, identificados em introduções de plantas (PIs) e em cultivares (Bromfield & Hartwig, 1980; McLean & Byth, 1980; Hartwig, 1986). Ainda, observa-se que existem cultivares com diferentes graus de sensibilidade ao fungo, que resultam em sintomas com lesões foliares distintas classificadas em: RB (*reddish-brown* = castanho-avermelhada), que indica menor suscetibilidade e TAN (castanho-clara), que indica maior suscetibilidade.

No entanto, a estabilidade dessa resistência é duvidosa, devido à grande variabilidade do patógeno (Hartman et al., 1994). Em Taiwan, observou-se a

existência de, pelo menos, uma raça, contendo três genes de virulência (Bromfield, 1981). Em outro trabalho, dezoito raças foram identificadas em amostras coletadas em plantas de soja e hospedeiros selvagens no Japão (Yamaoka et al., 2002).

Estudos realizados pela Embrapa Soja identificaram 11 cultivares com resistência a ferrugem. No entanto, a maioria das cultivares comerciais atualmente utilizadas foi classificada como suscetível (Yorinori et al., 2002).

No período de fevereiro a junho de 2002, 452 cultivares comerciais foram testadas para reação à ferrugem, por inoculações artificiais, em casa de vegetação, em Londrina e em campo, na cidade de Ponta Grossa, sob infecção natural. Houve grande variação na reação entre os cultivares, desde alto grau de resistência à alta suscetibilidade. A maioria das cultivares (440) apresentou reações variando de suscetível à altamente suscetível. As que apresentaram reações uniformes, variando de resistente a moderadamente resistente, foram: ‘BRS 134’, ‘BRSMS Bacuri’, ‘Campos Gerais’, ‘CS201’ (Esplendor), ‘FT-2’, ‘FT-3’, ‘FT-17’ (Bandeirantes), ‘FT-2001’, ‘IAC PL-1’, ‘IAS-3’ (Delta), ‘KI-S 601’ e ‘OCEPAR 7’ (Brilhante).

Em algumas das cultivares tem sido observado um tipo de resistência que retarda a evolução da doença, interferindo na taxa de progresso da doença. Entretanto, é difícil o desenvolvimento de genótipos que apresentem esse tipo de resistência porque as linhagens de populações segregantes possuem diferentes grupos de maturação (Hartman et al., 1992 citados por Vello et al., 2002).

Zambenedetti et al. (2004), avaliando 21 genótipos de soja em Lavras, MG, verificaram a formação de seis grupos de cultivares com níveis diferentes de resistência ou tolerância ao agente da ferrugem da soja. Esses grupos foram: o primeiro com cultivares que apresentaram uma pequena porcentagem de lesões (‘Doko’ e ‘Suprema’); o segundo, com seis cultivares com uma porcentagem um pouco maior (‘DM 339’, ‘Emgopa 314’, ‘Sambaiba’, ‘DM Vitória’, ‘AV 1043’ e

‘Emgopa 313’); o 3º e o 4º grupos foram intermediários, com quatro cultivares (‘BR9 Savana’, ‘Emgopa 315’, ‘IAC 19’ e ‘Segurança’) e cinco cultivares (‘Splendor’, ‘Ft 104’, ‘DM Nobre’, ‘Monsoy 8329’ e ‘Monsoy 8400’), respectivamente; o 5º e o 6º grupos com duas cultivares cada, sendo ‘Monsoy 8866’ e ‘Monarca’; ‘Monsoy 108’ e ‘CAC 1’, respectivamente, foram as que apresentaram maior número de lesões/cm² de área foliar.

Plantas na fase vegetativa mostraram-se resistentes, quando, na fase reprodutiva, passaram a sofrer os efeitos da doença, culminando em baixos rendimentos. Esse fato foi verificado no ensaio de competição de variedades de soja realizado anualmente na área experimental da Fundação Chapadão, na safra 2001/2002, em que as plantas de soja foram avaliadas quanto ao comportamento em relação à ferrugem. Verificou-se que, à medida que a soja foi evoluindo no seu ciclo, o índice de doença foi aumentando e o número de trifólios na haste principal foi decrescendo (Andrade & Araripe-Andrade, 2002).

A disponibilidade limitada de cultivares resistentes faz com que o manejo da cultura, por meio de épocas de semeadura e aplicação de defensivos, seja uma alternativa, devendo ser feito de forma racional para não inviabilizar a cultura e agredir o meio ambiente de forma indiscriminada.

2.9 A ultra-estrutura da interação patógeno-hospedeiro

A histologia da interação patógeno-hospedeiro é um recurso eficiente no estudo dos processos de infecção, pois ajuda esclarecer os eventos de pré-penetração, penetração e colonização do hospedeiro, além de possibilitar entender a fisiologia da interação. Pode ser útil também no esclarecimento dos mecanismos de resistência do hospedeiro, ou seja, os mecanismos estruturais e bioquímicos de defesa pré e pós-formados. A ocorrência desses mecanismos pode indicar a fase em que se expressa a resistência nas interações patógeno-hospedeiro e patógeno não-hospedeiro. Para o desenvolvimento desses estudos,

os microscópios de luz (ML), o microscópio eletrônico de transmissão (MET) e o microscópio eletrônico de varredura (MEV) têm proporcionado inestimáveis contribuições.

Várias diferenças ultra-estruturais de fungos causadores de ferrugens foram documentadas por Littlefield & Health (1979). McLean & Byth (1980) estudaram os eventos de pré-penetração e penetração de urediniósporos de *P. pachyrhizi* em cultivares suscetíveis, resistentes e altamente resistentes ('Tainung-3', 'Tainung-4' e 'PI-200492'). Não foi encontrada nenhuma diferença em relação ao desenvolvimento do tubo germinativo nas cultivares testadas, mas sim quanto à germinação de urediniósporos, à formação de apressório e à penetração. As cultivares Tainung-3 e Tainung-4 mostraram-se resistentes à germinação dos urediniósporos, portanto, a resistência dessas cultivares é de pré-penetração e penetração e, na cultivar PI-200492, apesar de os urediniósporos germinarem e conseguirem penetrar o tecido hospedeiro, não conseguem se desenvolver, daí a resistência apresentada na fase de pós-penetração.

Bonde et al. (1976) e Koch et al. (1983) utilizaram a ML, MEV e MET, respectivamente, para estudar o desenvolvimento de *P. pachyrhizi* em folhas de cultivares de soja suscetíveis, descrevendo diversos eventos que ocorrem nessa interação. Mais recentemente, Adendorff & Rykenberg (2000) aplicaram a MEV no estudo do processo de infecção de outra espécie de *Phakopsora*, *P. apoda*, mostrando que o processo é bem semelhante ao de *P. pachyrhizi*.

A importância da ML e MEV para a classificação de espécies de ferrugem pôde ser comprovada também no trabalho de Ono et al. (1992), que delimitaram as espécies dos gêneros *Phakopsora*, *Physopella* e *Cerotelium* que afetam as Fabaceae dentre elas *P. pachyrhizi* e *P. meibomiae*.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADENDORFF, R.; RYKENBERG, F. H. J. Direct penetration from urediospores of *Phakopsora apoda*. **Mycological Research**, New York, v. 104, n. 3, p. 317-324, Mar. 2000.

AGRIOS, G. N. **Plant pathology**. 5th ed. New York: Academic, 2005. 922 p.

AKAMATSU, M. A.; FIGUEIREDO, M. B.; HARAKAVA, R. Detecção e distinção de *Phakopsora pachyrhizi* e *P. meibomia* em Amostras do herbário uredinológico do Instituto Biológico. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 277-278, 2004. Resumo.

AMORIM, A. C. L. **Caracterização química da *Copaifera langsdorffi* Desfone e avaliação da sua atividade fungitóxica**. 2003. 94 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ANDRADE, P. J. M.; ANDRADE, D. F. A. A. **Ferrugem asiática: uma ameaça à sojicultura brasileira**. Dourados: Fundação Chapadão, 2002. (Circular técnica, 11).

ANDRADE, P. J. M.; ARARIPE-ANDRADE, D. F. A. **Ferrugem asiática: uma ameaça à sojicultura brasileira**. Brasília, DF: Embrapa Agropecuária Oeste, 2002. 11 p. (Circular técnica, 11).

APHIS. Factsheet Louisiana. **Soybean rust detection**. Disponível em: <<http://www.aphis.usda.gov>>. Acesso em: 20 nov. 2004.

BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncum* sobre *Crinipelis pernicios*a e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 441-443, 1997.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 555-557, 2004. Resumo.

BECKER, A.; VIGO-SCHULTZ, S. C.; STANGARLIN, J. R.; BALBI-PEÑA, M. I.; KLAHOLD, C. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle alternativo

das doenças de final de ciclo e oídio na cultura da soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 163, 2004. Suplemento.

BETTIOL, W. (Ed.). **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúna: Embrapa-CNPDA, 1991.

BONATO, E. R.; BONATO, A. L. V. **A soja no Brasil: história e estatística**. Londrina: Embrapa-CNPSo, 1987. 61 p. (Documentos, 21).

BONDE, M. R.; MELCHING, J. S.; BROMFIEL, K. R. Histology of the susceptible pathogen relationship between *Glycine max* and *Phakopsora pachyrhizi* the cause of soybean rust. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 66, n. 4, p. 1290-1294, 1976.

BONETTI, L. P. Distribuição da soja no mundo. In: MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Eds.). **A soja no Brasil**. Campinas: ITAL, 1981. p. 1-6.

BROMFIELD, K. R. World soybean rust situation. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 1976, Danville. **Proceedings...** Danville: The Interstate, 1976. p. 491-500.

BROMFIELD, K. R. Differential reaction of some soybean accessions to *Phakopsora pachyrhizi*. **Soybean Rust News**, [S.l.], v. 4, n. 2, 1981. Abstract.

BROMFIELD, K. R.; HARTWIG, E. E. Resistance to soybean rust and mode of inheritance. **Crop Science**, Madison, v. 20, n. 2, p. 254-255, Mar./Apr. 1980.

CARUSO, R. **Soja: uma caminhada sem fim**. Campinas: Fundação Cargill, 1996. 95 p.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTOS. **Safra grãos 2006/2007**. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 4 abr. 2007.

DESLANDES, J. A. Ferrugem da soja e de outras leguminosas causadas por *Phakopsora pachyrhizi* no Estado de Minas Gerais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 4, n. 2, p. 337-339, jun. 1979.

DINIZ, S. P. S. S.; UNTUM, H.; KAZANKI, L. I. B.; QUEIROZ, M. C. Ocorrência do fungo esclerotinia em raízes de estevia (*Stave rebaudiana* Bert) e controle por óleos vegetais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, p. 369, 2000. Resumo.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Soja-sistema de produção**: doenças e medidas de controle. 2001. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnpti.embrapa.br/SojaCentralBrasil2003/doencas>>. Acesso em: 11 dez. 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Soja-sistema de alerta**: relato ferrugem 2006, Minas Gerais. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/alerta>>. Acesso em: 6 dez. 2006.

FREDERICK, R. D.; SNYDER, C. L.; PETERSON, G. L.; BONDE, M. R. Polymerase chain reaction assays for the detection and discrimination of the soybean rust pathogens *Phakopsora pachyrhizi* and *P. meibomia*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 92, n. 2, p. 217-227, Feb. 2002.

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

GODOY, C. V.; CANTERI, M. G. Efeitos protetor, curativo e erradicante de fungicidas no controle da ferrugem da soja causada por *Phakopsora pachyrhizi*, em casa de vegetação. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 1, p. 97-101, jan./fev. 2004.

HART, H. **Morphologic and physiologic studies on stem-rust resistance in cereals**. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, 1932. 76 p. (Bulletin, 266).

HARTWIG, E. E. Identification of a fourth major genes conferring to rust in soybeans. **Crop Science**, Madison, v. 26, n. 6, p. 1135-1136, Nov./Dec. 1986.

HARTMAN, G.; WANG, T. C.; SHANMUGASUNDARAM, S. Soybean rust research progress and future projects. In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 1994, Chang Mai, Thailand. **Proceedings...** Chang Mai: [s.n.], 1994. p. 180-186.

HUNT, P. Cuticular penetration by germinating uredospores. **Transactions of the British Mycological Society**, [S.l.], v. 51, p. 103-112, 1983.

HYMOWITZ, T. On the domestication of soybeans. **Economic Botany**, Bronx, v. 24, p. 408-421, 1970.

KEORGH, K. C. **Studies on *Phakopsora pachyrhizi* Syd.**: the causal agent of the soybean rust. 1974. 95 f. Doctor (Thesis) - University of Sydney, Sydney.

KITANI, K.; INOUE, Y. Studies on the soybean rust and its control measure: I. studies on the soybean rust. **Shikoku Agriculture Experimental Station Bulletin**, Zentsuji, v. 5, n. 3, p. 319-342, 1960.

KOCH, E.; EBRAHIN-NESBAT, F.; HOPPE, H. H. Light and electron microscopic studies on the development of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) in susceptible soybean leaves. **Journal of Phytopathology**, Hamburg, v. 106, n. 4, p. 302-320, 1983.

KOLLER, W.; SCHEEINPFLUG, H. Fungal resistance to sterol biosynthesis inhibitors: a new challenge. **Indian Phytopatology**, New Delhi, v. 33, n. 4, p. 620-621, 1987.

LITTLEFIELD, L. J.; ARONSON, S. J. Histological studies of *Melampsora lini* resistance in flax. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 48, n. 6, p. 1136-1136, 1970.

LITTLEFIELD, L. J.; HEALTH, M. C. **Ultrastruture of rust fungi**. Toronto: Academic, 1979. 275 p.

MCLEAN, R. J.; BYTH, D. E. Inheritance of resistance to rust (*Phakopsora pachyrhiziz*) in soybean. **Australian Journal of Agricultural Research**, Victoria, n. 31, n. 5, p. 951-956, 1980.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; MAGNO JÚNIOR, R. G.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, 2007.

MELCHING, J. S.; BROMFIELD, K. R.; KINGSOLVER, C. H. Infection, colonization and uredospores production on Wayne soybean by four cultures of *Phakopsora pachyrhizi*, the cause of soybean rust. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 69, n. 12, p. 1262-1265, Dec. 1979.

MIYASAKA, S.; MEDINA, J. C. (Eds.). **A soja no Brasil**. Campinas: ITAL, 1981. 1062 p.

MOLDENHAUER, J.; MOERSCHBACHER, B. M.; WESTHUIZEN, A. J. van der. Histological investigation of stripe rust (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*) development in resistant and susceptible wheat cultivars. **Plant Pathology**, Honolulu, v. 55, n. 4, p. 469-474, ago. 2006.

MORAES, M. B. de; ALVES, E.; BORGES, D. I.; MEDICE, R. Hospedeiros alternativos para ferrugem asiática da soja (*Phakopsora pachyrhizi*) em Lavras. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 237, 2006. Resumos.

MOREL, W.; YORINORI, J. T. **Situacion de la roja de la soja em el Paraguay**. Capitain Miranda: Ministério de Agricultura Y Guanadeira, 2002. (Boletim de Divulgacion, 44).

MORSE, W. J. History of soybean production. In: MARKLEY, K. S. **Soybeans and soybean products**. New York: Interscience, 1950. p. 3-59.

OLIC, N. B. **Os caminhos percorridos pela soja no Brasil**. 2001. Disponível em: <<http://www.clubemundo.com.br/revistapangea>>. Acesso em: 15 jan. 2007.

ONO, Y.; BURITICA, P.; HENNEN, J. F. Delimitation of *Phakopsora*, *Physopella* and *Cerotelium* and their species on Leguminosae. **Mycology Reserch**, New York, v. 96, n. 10, p. 825-850, Oct. 1992.

PENTEADO, S. R. **Potencialidade do mercado orgânico**. Disponível em: <<http://www.agrorganica.com.br/mercado>>. Acesso em: 19 mar. 2007.

PETROBRÁS. **Biodiesel Petrobrás**. Disponível em: <<http://www.br.com.br/portalbr/calandra.nsf>>. Acesso em: 12 abr. 2007.

PLANCK, J. E. van der. **Plant diseases: epidemics and control**. New York: Academic, 1963.

PLANCK, J. E. van der. **Disease resistance in plants**. New York: Academic, 1968.

REIS, E. M.; BRESOLIM, A. C. R. Ferrugem da soja: revisão e aspectos técnicos. In: FORCELINI, C. A.; REIS, E. M.; GASSEN, F.; YORINORI, J. T.; HOFFMANN, L.; COSTAMILAN, L.; SILVA, O. C. da; BALAEDINI, R.; CASA, R. T. **Doenças da cultura da soja**. [S.l.]: Aldeia Norte, 2004. p. 55-70.

ROSSI, R. L. First report of *Phakopsora pachihizi*, the causal organism of soybean rust in the Province of Misiones, Argentina. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 87, n. 1, p. 102, Jan. 2003.

SALGADO, A. P. S. **Estudos dos constituintes químicos e da atividade fungitóxica do óleo essencial das folhas de eucalyptus**. 2001. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

SALUSTIANO, M. E.; FERRAZ FILHO, A. C.; POZZA, E. A.; CASTRO, H. A. Extratos de candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC) MacLeish) na inibição in vitro de *Cylindrocladium scoparium* e quatro gêneros de uredinalis. **Cerne**, Lavras, v. 12, n. 2, p. 189-193, 2006.

SCHAFFER, J. F. Tolerance to plant disease. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 9, p. 235-252, Sept. 1971.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Efeito do extrato bruto de plantas medicinais na indução de fitoalexinas em soja e sorgo. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 346, 1997. Resumo.

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, v. 25, p. 54-56, 2003. Suplemento.

SINCLAIR, J. B.; BACKMAN, P. A. **Compendium of soybean diseases**. 3th ed. Minnesota: APS, 1989.

SINCLAIR, J. B.; HARTMAN, G. L. Management of soybean rust. In: SOYBEAN RUST WORKSHOP, 1995, Urbana. **Proceedings...** Urbana: College of Agricultural, 1995. p. 6-10.

SINCLAIR, J. B.; HARTMAN, G. L. Soybean rust. In: HARTMAN, G. L.; SINCLAIR, J. B.; RUPE, J. C. (Eds.). **Compendium of soybean diseases**. 4. ed. Saint Paul: American Phytopathological Society, 1999.

SOARES, R. M.; RUBIN, S. de A. L.; WIELEWICKI, A. P.; OZELAME, J. G. Fungicidas no controle da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) e produtividade da soja. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 34, n. 4, p. 1245-1247, jul./ago. 2004.

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

TSCHANZ, T. A. Rust. In: SINCLAIR, J. B.; BACKMAN, P. A. (Eds.). **Compendium of soybean diseases**. 3th ed. Saint Paul: APS, 1989. p. 245-327.

TSCHANZ, T. A.; WANG, T. C. Interrelationship between soybean development, resistance, and *Phakopsora pachyrhizi*. In: INTERNATIONAL

CONGRESS OF THE SOCIETY FOR THE ADVANCED OF BREEDING RESEARCH IN ASIA AND OCEANIA, 15., 1985, Bangkok, Thailand. **Proceedings...** Bangkok: [s.n.], 1985. p. 14-20.

VELLO, N. A.; BROGIN, R. L.; ARIAS, C. A. A. Estratégias de melhoramento para o controle da ferrugem da soja. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA; CONGRESSO BRASILEIRO DE SOJA E MERCOSOJA, 2., 2002, Foz do Iguaçu, PR. **Anais...** Foz do Iguaçu: UFPR, 2002. v. 180, p. 188-196.

WILLER, H.; YUSSEFI, M. **The world of organic agriculture**: statistics and emerging trends. Bonn: IFOAM; Research Institute of Organic Agriculture FiBL, 2005.

YAMAOKA, Y.; FUJIWARA, Y.; KAKISHIMA, M.; KATSUYA, K.; YAMADA, K.; HAGIWARA, H. Pathogenic races of *Phakopsora pachyrhizi* on soybean and wild host plants collected in Japan. **Journal of General Plant Pathology**, [S.l.], v. 68, n. 1, p. 52-56, Feb. 2002.

YORINORI, J. T. Doenças da soja no Brasil. In: FUNDAÇÃO CARGILL. **Soja no Brasil Central**. 3. ed. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p. 301-363.

YORINORI, J. T. **Controle da ferrugem asiática da soja na safra 2006/07**. Disponível em: <<http://www.agrolink.com.br/ferrugem>>. Acesso em: 20 dez. 2006.

YORINORI, J. T.; KIIHL, R. A. S.; ARIAS, C. A. A.; ALMEIDA, L. A.; YORINORI, M. A.; GODOY, C. V. Reações de cultivares de soja a ferrugem "asiática" (*Phakopsora pachyrhizi*). In: REUNIÃO DE PESQUISA DE SOJA DA REGIÃO CENTRAL DO BRASIL, 24., 2002, São Pedro, SP. **Resumos...** São Pedro: USP, 2002. p. 149.

YORINORI, J. T.; LAZZAROTTO, J. J. **Situação da ferrugem asiática da soja no Brasil e na América do Sul**. Londrina: Embrapa Soja, 2004. 30 p. (Documentos, 236).

YORINORI, J. T.; PAIVA, W. M. **Ferrugem da soja: *Phakopsora pachyrhizi* Sydow**. Londrina: Embrapa soja, 2002. Folder.

ZAMBENEDETTI, E. B. **Preservação de *Phakopsora pachyrhizi* sydow & sydow e aspectos epidemiológicos e ultra-estruturais da sua interação com a soja (*Glycine max* (L.) merril)**. 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

ZAMBENEDETTI, E. B.; MEDICE, R.; ALVES, E.; POZZA, E. A.; ARAUJO, D. V.; CARVALHO, E. A.; REZENDE, P. M. Avaliação do número de lesões de ferrugem da soja causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi* em 21 cultivares de soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 164, 2004. Resumo.

ZAMBENEDETTI-MAGNANI, E. B.; ALVES, E.; ARAÚJO, D. V. Eventos dos processos de pré-penetração, penetração e colonização de *Phakopsora pachyrhizi* em folíolos de soja. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 2, p. 156-160, 2007.

ZAMBOLIM, L. Manejo integrado de doenças e proteção ambiental. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 268-269, 1995.

CAPÍTULO 2

EFEITO DE EXTRATOS E ÓLEOS ESSENCIAIS DE PLANTAS NA GERMINAÇÃO DE UREDINIÓSPOROS DE *Phakopsora pachyrhizi*

1 RESUMO

BORGES, Daniella Ines. Efeito de extratos e óleos essenciais de plantas na germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*. In: **Óleos e extratos vegetais no controle da ferrugem-asiática da soja (*Glycine max* (L.) Merrill).** 2007. Cap. 2. p.26-47. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O manejo da ferrugem da soja compreende diversas medidas conjuntas, sendo o químico o principal método até o momento. Outra estratégia que utiliza métodos alternativos para o controle de doenças e pragas vem sendo pesquisada por causar menores danos ao ambiente e a saúde humana. Diante disso, o objetivo deste estudo foi identificar extratos de plantas e óleos essenciais como possíveis produtos alternativos para manejo dessa doença. Assim, 61 extratos de plantas da flora nativa da região do Alto Rio Grande, Minas Gerais e cinco óleos essenciais obtidos comercialmente foram utilizados com a finalidade de testar seus efeitos na germinação de urediniósporos do referido fungo. Foram utilizadas placas de Petri de 6 cm, com meio ágar-água, adicionado com 150 µL de extrato de planta ou 6 µL do óleo essencial misturado ao meio de cultura. Como testemunhas, foram utilizados 150 µL de Tween 20 a 0,7% e 150 µL de água destilada. Após, foram adicionados 50µL de uma suspensão de esporos, na concentração de 2mg/5mL e espalhados com alça de Drigalsky. As placas foram colocadas em BOD, a 23(±2°C), por 4 horas. Depois, a germinação foi paralisada com adição de lactoglicerol. A avaliação da percentagem de esporos germinados foi realizada em microscópio de luz. Dentre os extratos vegetais testados, dez apresentaram percentual de germinação abaixo de 15%, tendo os extratos obtidos das plantas *Pelargonium* sp., *Salvia officinalis*, *Lavandula officinalis*, *Mentha pulegium* e *M. arvensis* apresentado germinação de esporos de 3,0%, 3,5%, 3,0%, 2,0% e 4,0%, respectivamente. Todos os óleos essenciais avaliados foram efetivos na inibição da germinação, com destaque para o óleo essencial de *Caryophilus aromaticus*, que apresentou uma percentagem de germinação de 5,0%, resultando num percentual de inibição de 78,0%.

* Comitê de orientação: Eduardo Alves – UFLA (Professor Orientador), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA.

2 ABSTRACT

BORGES, Daniella Ines. Effect of plants extracts and essential oils in the germination of urediniósporos of *Phakopsora pachyrhizi*. In: **Vegetal essential oils and extracts in the control of the Asian soybean rust (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 2007. Cap. 2, p.26-47. Dissertation (Master in Phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

The management of the soybean rust concerns the association measures, being chemistry the main method until the moment. Another strategy using alternative methods for the control of the diseases and plagues, are being studied, for causing minors damages to the environment and the human being health. Taking this into consideration, this study aimed identify extracts of plants and essential oils as possible alternative products in the handling of this diseases. Thus, 61 extracts of plants of the native flora of the region at Lavras, Minas Gerais State and 5 essential oils gotten commercially were used with the purpose to test its effect in the germination of urediniospores of the related fungus. Plates of Petri of 6cm, with water-agar medium, added with 150 µL of plant extract or 6 µL of essential oil mixed to the culture medium. As control had been used 150 µL of Tween 20 at 0,7% and 150 µL of distilled water. After that, 50 µL of a suspension of the spores was added, in the concentration of 2mg/5mL and spread with a espatula of Drigalsky. The were placed in BOD, at 23 (±2°C), for 4 hours, after the germination were paralyzed with the addition of lactoglicerol. The evaluation of the percentage of germinated spores was carried out in the light microscope. Amongst the vegetal extracts tested, ten of them had presented a percentage of germination below 15%, being that, the extracts gotten by the plants *Pelargonium* sp., *Salvia officinalis*, *Lavandula officinalis*, *Mentha pulegium* and *M. arvensis* presented a germination of spores of 3,0%, 3,5%, 3,0%, 2,0% and 4,0%, respectively. All the evaluated essential oils had been effective in the inhibition of the germination, with prominence for the essential oil of *Caryophilus aromaticus*, that presented a percentage of germination of 5,0%, resulting in a percentage of 78,0% inhibition.

* Advising Committee: Eduardo Alves – UFLA (Major Professor); Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

Com o surgimento de fitopatógenos resistentes a substâncias químicas, utilizadas indiscriminadamente por produtores, pesquisas têm sido realizadas com a finalidade de identificar formas alternativas de controle de pragas e doenças, reduzindo os impactos ambientais e os riscos de intoxicação humana, causados pelo atual modelo de produção agrícola.

A produção de soja orgânica está se difundindo no Brasil e, atualmente, o país se destaca como o maior produtor mundial. Esta cadeia encontra-se sem alternativas para o controle da ferrugem, uma vez que os produtos disponíveis para o controle da doença não podem ser utilizados (Medice et al., 2007).

Segundo Sholberg & Gaunce (1995), as substâncias sintetizadas naturalmente pelas plantas, em resposta às necessidades ecológicas e de desenvolvimento, protegem-nas contra o ataque de patógeno. Assim, os extratos e óleos extraídos de plantas nativas vêm sendo utilizados em estudos visando à redução do uso de fungicidas e com resultados promissores no controle de vários fitopatógenos.

Pesquisa realizada *in vitro* é o primeiro passo para identificar o potencial de produtos oriundos de plantas medicinais da flora nativa, no controle de fitopatógenos e na indução dos mecanismos de defesa das plantas. Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial têm indicado o potencial das mesmas em diversos patossistema, por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos (Schwan-Estrada et al., 2003).

Assim, este trabalho teve por objetivo, avaliar o efeito de extratos e óleos essenciais vegetais no processo de germinação de urediniosporos de *P. pachyrhizi*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Obtenção dos óleos essenciais e preparo dos extratos vegetais

Os óleos essenciais foram obtidos comercialmente e estão apresentados na Tabela 1. Foram utilizados 61 extratos vegetais, fornecidos pelo Prof. Denílson Ferreira de Oliveira, do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras, e apresentados na Tabela 2. Para o preparo dos extratos, partes de tecidos vegetais (fruto, folhas, flores) foram maceradas com metanol, por 48 horas. Essa mistura foi filtrada, dando origem ao resíduo e ao filtrado. O resíduo foi imerso em mais metanol durante 48 horas, dando origem a um novo resíduo e a um novo filtrado, o qual foi adicionado ao filtrado anterior, originando uma solução, que foi concentrada em evaporador rotatório e liofilizador.

TABELA 1. Óleos essenciais utilizados nos testes *in vitro*. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Óleo essencial nome científico	Óleo essencial nome comum
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Alecrim
<i>Cymbopogon citratus</i>	Capim-limão
<i>Eucalyptus citriodora</i>	Eucalipto citriodora
<i>Caryophyllus aromaticus</i>	Cravo-da-índia
<i>Piper aduncum</i>	Pimenta-de-macaco

TABELA 2. Extratos vegetais utilizados nos testes *in vitro*. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Extrato vegetal nome científico	Extrato vegetal nome comum	Extrato vegetal nome científico	Extrato vegetal nome comum
<i>Ficus carica</i>	Figueira	<i>Coix lacryma- jobi</i>	Lágrima-de- nossa-senhora
<i>Coffea arabica</i>	Café arabica	<i>Jatropha curcas</i> fruto	Pinhão manso
<i>Achillea millefolium</i> folha	Mil-folhas	<i>Hypericum perforatum</i>	Erva-de-são- joão
<i>Tanacetum vulgare</i>	Catinga-de- mulata	<i>Artemisia annua</i>	Artemisia
<i>Plantago lanceolata</i>	Transagem	<i>Mentha piperita</i>	Hortelã-pimenta
<i>Ocimum basiculum</i>	Manjeriço	<i>Pelargonium</i> sp.	Gerânio
<i>Musa sapientum</i>	Bananeira	<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Erva-de-santa- maria
<i>Achillea millefolium flor</i>	Mil-folhas	<i>Mirabilis jalapa</i>	Maravilha
<i>Zingiber officinale</i>	Gengibre	<i>Sambucus nigra</i> folha	Sabugueiro
<i>Citrus limon</i>	Limão-siciliano	<i>Petiveria alliacea</i>	Guiné
<i>Psidium guajava</i>	Goiabeira	<i>Porophyllum ruderale</i>	Arnica-paulista
<i>Mangifera indica</i>	Mangueira	<i>Salvia officinalis</i>	Salvia
<i>Ricinus communis</i>	Mamoneira	<i>Jatropha curcas</i> folha	Pinhão manso
<i>Symphytum officinale</i>	Confrei	<i>Cynara scolymus</i>	Alcachofra
<i>Mentha spicata</i>	Hortelã-peluda	<i>Curcuma longa</i>	Curcuma
<i>Glechoma hederaceae</i>	Hera terrestre	<i>Ginkgo biloba</i>	Ginkgo-biloba
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Alecrim	<i>Anonna squamosa</i>	Pinha
<i>Tropaeolum majus</i>	Capuchinha	<i>Centella asiatica</i>	Centela-asiática

... continua...

TABELA 2. Cont.

Extrato vegetal nome científico	Extrato vegetal nome comum	Extrato vegetal nome científico	Extrato vegetal nome comum
<i>Ocimum gratissimum</i>	Alfavaca	<i>Urtica dióica</i>	Urtiga
<i>Equisetum arvense</i>	Cavalinha	<i>Lavandula officinalis</i>	Alfazema
<i>Tagetes sp. folha</i>	Cravo-de- defunto	<i>Hedera helix</i>	Hera
<i>Jatropha curcas flor</i>	Pinhão manso	<i>Momordica charantia</i>	Melão-de-são- caetano
<i>Thymus vulgaris</i>	Tomilho	<i>Nicotiana tabacum</i>	Tabaco
<i>Tagetes sp. flor</i>	Cravo-de- defunto	<i>Tetradenia riparia</i>	Mirra
<i>Mimosa pudica folha</i>	Dormideira	<i>Mentha pulegium</i>	Poejo
<i>Punica granatum</i>	Romã	<i>Pteridium aquilinum</i>	Samambaia
<i>Tropaeolum majus</i>	Capuchinha	<i>Petiveria alliaceae</i>	Tipi
<i>Mimosa pudica flor</i>	Dormideira	<i>Taraxacum officinale</i>	Dente-de-leão
<i>Sambucus nigra flor</i>	Sabugueiro	<i>Melissa officinalis</i>	Erva-cidreira
<i>Citrus aurantium</i>	Laranja-amarga	<i>Mentha arvensis</i>	Menta
<i>Tília cordata</i>	Tília	-	-

4.2 Preparo da suspensão de urediniósporos

Os urediniósporos de *P. pachyrhizi* foram obtidos de plantas de soja da cultivar MG/BR 46 (Conquista), naturalmente infectadas, provenientes do campo experimental da UFLA, em Lavras, MG, coletados pelo método da batida, utilizado por Zambenedetti (2005). Em seguida, foram pesados e colocados em béquer, contendo água destilada e Tween 20 a 0,7%, agitando por

três minutos. Foi preparada uma suspensão de urediniósporos na concentração de 2mg/5mL (em média, 2×10^4 urediniósporos/mL).

4.3 Testes *in vitro*

Os extratos vegetais e os óleos essenciais foram avaliados, tendo sido divididos em 6 experimentos. Como testemunhas, foram utilizados Tween 20 a 0,7% e água destilada.

Para os testes de germinação, foram utilizadas duas placas de Petri com 6,0 cm de diâmetro contendo meio ágar-água, para cada tratamento. A essas, foram adicionados 150 μ L de extrato vegetal ou 6 μ L de óleo essencial incorporado ao meio de cultura e 50 μ L da suspensão de urediniósporos, na concentração de 2mg/5mL de água destilada. Em seguida, as placas foram levadas para câmara de germinação a 23°C(\pm 2°C), por 4 horas. Após a incubação, o processo foi paralisado utilizando-se lactoglicerol e avaliou-se a porcentagem de germinação em microscópio de luz, com aumento de 400x. Os urediniósporos foram considerados germinados quando o comprimento do tubo germinativo era duas vezes maior que o tamanho do esporo.

4.4 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Cada placa de Petri foi dividida em dois compartimentos, sendo cada repetição constituída por um compartimento, em que 50 urediniósporos foram observados, num total de 200 urediniósporos por tratamento.

4.5 Análise dos dados

Devido à grande quantidade de valores zero de germinação, os dados foram transformados para arco-sen $\sqrt{x/100}$, em que x é a porcentagem

observada. As análises foram feitas no programa Sisvar (Ferreira, 2000) e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knot, a 5%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados evidenciaram grande diversidade quanto ao percentual de urediniósporos germinados, tanto para a inibição como para a estimulação da germinação.

No experimento I (tabela 3) ocorreu pouca variação quanto ao percentual de germinação dos urediniósporos. Os extratos vegetais obtidos de *Citrus limon*, *Ocimum gratissimum*, *O. basilicum* e de flor de *Achillea millefolium* foram os que se destacaram na redução da germinação de urediniósporos, apresentando percentual de inibição da germinação de 49,43% a 73,03%, comparado com a testemunha-água.

O percentual de germinação apresentado pelo extrato de *A. millefolium* foi variável de acordo com a parte vegetal utilizada. Mesmo ambos apresentando resultados estatisticamente diferentes da testemunha-água, pode-se concluir que a substância bioativa na inibição da germinação está concentrada na flor dessa espécie, chamada de mil-folhas.

A planta da espécie *O. basilicum* possui alguma substância, ainda não identificada, que é capaz de inibir a germinação de esporos de fungos. Bernardo et al. (1998), utilizando o óleo essencial dessa espécie de planta como também o óleo essencial de *Baccharis trimera* e *Ruta graveolens*, verificaram que houve 100% de inibição da germinação de conídios de *Colletotrichum graminicola*, tendo, no tratamento controle, a germinação sido de 92%.

TABELA 3. Percentagem de germinação de urediniósporos de *P. pachyrhizi*, no experimento I, sob o efeito de extratos vegetais. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Extrato vegetal - nome científico	% urediniósporos germinados	% de germinação comparada com água destilada
Água destilada	44,5 a*	0,00
<i>Achillea millefolium</i> folha	30,5 b	31,46
<i>Equisetum arvense</i>	30,5 b	31,46
Tween 20 a 0,7%	30,0 b	32,58
<i>Coffea arabica</i>	29,0 b	34,83
<i>Plantago lanceolata</i>	26,0 b	41,57
<i>Ficus caria</i>	24,5 b	44,94
<i>Citrus limon</i>	22,5 c	49,43
<i>Tanacetum vulgare</i>	16,5 c	62,92
<i>Ocimum gratissimum</i>	16,0 c	64,04
<i>Ocimum basiculum</i>	14,0 c	68,53
<i>Achillea millefolium</i> flor	12,0 c	73,03

* Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot, a 5% de probabilidade.

Para o Experimento II, todos os extratos vegetais mostraram-se estatisticamente diferentes dos tratamentos com água destilada e com Tween (Tabela 4). Os extratos obtidos de flor de *Jatropha curcas*, *Citrus aurantium* e de *Thymus vulgaris* apresentaram valores médios de inibição da germinação de urediniósporos de 64,58%, 66,66% e 70,83%, respectivamente.

Neste experimento foi avaliado o efeito de duas espécies de plantas, tomando-se a flor e a folha para a produção dos extratos. Para os extratos obtidos de *Tagetes* sp., os resultados foram diferentes, tendo aquele obtido da flor sido mais efetivo, e também mais efetivo dentre todos testados, com um percentual de 7,5% de germinação, indicando 84,37% de inibição da germinação dos urediniósporos, comparados com a testemunha-água. Já para ambos os

extratos obtidos de *Mimosa pudica*, os resultados não apresentaram diferença estatística.

TABELA 4. Percentagem de germinação de urediniósporos de *P. pachyrhizi*, no experimento II, sob o efeito de extratos vegetais. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Extrato vegetal - nome científico	% urediniósporos germinados	% de germinação comparada com água destilada
Tween 20 a 0,7%	49,5 a*	+ 3,12
Água destilada	48,0 a	0,00
<i>Tropaeolum majus</i> flor	30,0 b	37,50
<i>Tagetes sp.</i> folha	28,5 b	40,62
<i>Sambucus nigra</i> flor	27,5 b	42,70
<i>Punica granatum</i>	26,5 b	44,80
<i>Mimosa pudica</i> flor	26,0 b	45,83
<i>Mimosa pudica</i> folha	20,5 b	57,30
<i>Jatropha curcas</i> flor	17,0 c	64,58
<i>Citrus aurantium</i>	16,0 c	66,66
<i>Thymus vulgaris</i>	14,0 c	70,83
<i>Tagetes sp.</i> flor	7,5 d	84,37

* Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot, a 5% de probabilidade. + corresponde ao estímulo à germinação de urediniósporos.

Observando-se os resultados do Experimento III, constata-se que os dados foram mais variáveis, comparados aos Experimentos I e II (Tabela 5).

De acordo com a análise estatística, nenhum dos extratos vegetais testados foi efetivo na inibição da germinação dos urediniósporos. Os extratos obtidos de *Rosmarinus officinalis*, *Glechoma hederaceae*, *Symphytum officinale*

e de *Tropaeolum majus*, apesar de estatisticamente semelhantes ao tratamento com Tween 20, apresentaram menores percentuais de germinação.

TABELA 5. Percentagem de germinação de urediniósporos de *P. pachyrhizi*, no experimento III, sob o efeito de extratos vegetais. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Extrato vegetal - nome científico	% urediniósporos germinados	% de germinação comparada com água destilada
Água destilada	34,0 a*	0,00
<i>Mangifera indica</i>	32,0 a	5,88
<i>Musa sapientum</i>	31,5 a	7,55
<i>Zingiber officinale</i>	30,0 a	11,76
<i>Psidium guajava</i>	27,0 a	20,58
<i>Ricinus communis</i>	27,0 a	20,58
<i>Mentha spicata</i>	26,5 a	22,05
Tween 20 a 0,7%	21,0 b	38,23
<i>Rosmarinus officinalis</i>	20,0 b	41,17
<i>Glechoma hederaceae</i>	20,0 b	41,17
<i>Symphytum officinale</i>	19,5 b	42,64
<i>Tropaeolum majus</i> folha	15,0 b	55,88

* Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot, a 5% de probabilidade.

O efeito do extrato de *Symphytum officinale*, popularmente chamada de confrei, foi avaliado na germinação de outros fungos. Karavaev et al. (2001) observaram que tanto este como o extrato obtido de *Bauhinia* sp. (pata-de-vaca) foram capazes de inibir a germinação de conídios de *Erysiphe graminis* e urediniósporos de *Puccinia graminis*, respectivamente agentes causais do oídio e ferrugem-do-colmo em trigo. Salustiano et al. (2006), trabalhando com o mesmo fungo e ainda outros dois fungos agentes causais de ferrugem: *Hemileia*

vastatrix e *Cerotelium fici*, utilizaram extrato de Candeia (*Eremanthus erythropappus*) com extração alcoólica, aquosa e o chá das folhas, na concentração de 10%, bem como o óleo essencial, a 1%. Após períodos de incubação de 4, 24 e 48 horas, respectivamente, todos os extratos e o óleo essencial foram capazes de inibir em 100% a germinação dos esporos.

Os dados da Tabela 6 representam os valores encontrados no Experimento IV. Neste experimento, o percentual obtido com a utilização dos extratos vegetais foi variável, desde extratos que apresentaram um baixo percentual de germinação até os que foram capazes de estimular a germinação de urediniósporos.

O tratamento testemunha-água apresentou baixo percentual germinativo (27,0%), possivelmente devido a algum fator intrínseco aos urediniósporos.

Alguns extratos vegetais apresentaram um efeito de estimulação na germinação, com destaque para o extrato de *Tília cordata*, com 178,0% de estímulo, comparado à testemunha-água. Além deste, outros extratos apresentaram tal efeito, como os extratos de folha de *Sambucus nigra*, fruto de *Jatropha curcas* e de *Coix lacryma-jobi*, com percentual de estímulo de 157,4%, 155,55% e 150,0%, respectivamente.

Várias substâncias podem regular germinação de urediniósporos, incluindo endógenos de auto-inibição química e substâncias que estimulam a germinação (Lucas & Knight, 1987; French, 1992; Griffin, 1994).

Tessmann & Dianese (2002) trabalharam com o extrato obtido de folhas de jameiro (*Syzygium jambos*). Frações do extrato foram purificadas por meio de cromatografia de coluna e foram testadas sobre a germinação de urediniósporos de *Puccinia psidii*. Uma fração diluída com n-hexano 100% aumentou a germinação em até 88,0%, comparado à testemunha com somente óleo mineral. Assim, estes como também outros resultados podem contribuir para o melhor entendimento do processo de infecção das ferrugens nas plantas

hospedeiras. No caso de *P. pachyrhizi*, substâncias que estimulam a germinação, podem auxiliar na compreensão do complexo processo de germinação desse patógeno.

TABELA 6. Percentagem de germinação de urediniósporos de *P. pachyrhizi*, no experimento IV, sob o efeito de extratos vegetais. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Extrato vegetal - nome científico	% urediniósporos germinados	% de germinação comparada com água destilada
<i>Tília cordata</i>	75,0 a*	+178,00
<i>Sambucus nigra</i> folha	69,5 a	+157,40
<i>Jatropha curcas</i> fruto	69,0 a	+155,55
<i>Coix lacryma-jobi</i>	67,5 a	+150,00
<i>Cynara scolymus</i>	55,0 b	+103,70
<i>Hypericum perforatum</i>	47,5 b	75,92
<i>Mirabilis jalapa</i>	46,5 b	72,22
Tween 20 a 0,7%	40,0 b	48,148
<i>Porophyllum ruderale</i>	38,5 b	42,60
<i>Petiveria alliacea</i>	28,0 c	3,70
Água destilada	27,0 c	0,00
<i>Jatropha curcas</i> folha	23,5 c	12,96
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	19,0 c	29,63
<i>Mentha piperita</i>	17,5 c	35,18
<i>Artemisia annua</i>	10,5 d	61,11
<i>Salvia officinalis</i>	3,5 d	87,03
<i>Pelargonium</i> sp.	3,0 d	88,88

* Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot, a 5% de probabilidade. + corresponde ao estímulo à germinação de urediniósporos.

Por outro lado, neste experimento, efeito inibitório da germinação foi também detectado com o uso dos extratos de *Artemisia annua*, *Salvia officinalis*

e *Pelargonium* sp. Nesses extratos, foram obtidos 10,5%, 3,5% e 3,0% de germinação de urediniósporos, com inibição média de 61,11%, 87,03% e 88,88%, respectivamente, quando comparado com a testemunha-água.

No Experimento V, os dados de percentagem apresentaram ampla variação, tendo diversos extratos sido responsáveis por causar inibição e outros proporcionado algum estímulo para a germinação dos urediniósporos, conforme exposto na Tabela 7. A testemunha-água apresentou germinação de 55,5%, juntamente com a testemunha-tween, com 51,5%.

Dentre os extratos testados, o de *Pteridium aquilinum* apresentou um percentual de 76,5% de germinação, o que representa 37,83% de estímulo na germinação dos urediniósporos, comparado com a testemunha-água. Outros extratos vegetais também apresentaram efeito estimulatório, como os obtidos de *Taraxacum officinale* e *Momordica charantia*, com 6,3% e 3,6%, respectivamente.

A maioria dos extratos testados foi promissora na inibição da germinação dos urediniósporos. Dentre esses, os que merecem destaque são: extratos de *Lavandula officinalis*, *Mentha pulegium* e de *M.arvensis*, com percentuais de 92,80%, 94,60% e 96,40% de inibição. Esses altos valores encontrados foram importantes para a seleção desses extratos para testes *in vivo*.

A cúrcuma (*Curcuma longa*) tem sido amplamente empregada em diversas finalidades. No que diz respeito ao controle de germinação de esporos de fungos, esta planta tem-se mostrado eficiente. Balbi-Peña et al. (2006), utilizando extratos de cúrcuma e da curcumina (substância extraída da cúrcuma), observaram que os extratos brutos não autoclavados, houve uma inibição da germinação de esporos de *Alternaria solani* de até 15%, o que não ocorreu com os extratos autoclavados, indicando a presença de algum composto termolábil.

TABELA 7. Percentagem de germinação de urediniósporos de *P. pachyrhizi*, no experimento V, sob efeito de extratos vegetais. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Extrato vegetal - nome científico	% urediniósporos germinados	% de germinação comparada com água destilada
<i>Pteridium aquilinum</i>	76,5 a*	+37,83
<i>Taraxacum officinale</i>	59,0 b	+ 6,30
<i>Momordica charantia</i>	57,5 b	+3,60
Água destilada	55,5 b	0,00
Tween 20 a 0,7%	51,5 b	7,20
<i>Petiveria alliaceae</i>	47,5 c	14,41
<i>Nicotiana tabacum</i>	41,5 c	25,22
<i>Hedera helix</i>	32,5 c	41,44
<i>Tetradenia riparia</i>	31,5 c	43,24
<i>Annona aquanosa</i>	30,0 c	45,94
<i>Centella asiática</i>	25,0 d	54,95
<i>Ginkgo biloba</i>	22,0 d	60,36
<i>Curcuma longa</i>	15,5 d	72,07
<i>Lavandula officinalis</i>	4,0 e	92,80
<i>Mentha pulegium</i>	3,0 e	94,60
<i>Mentha arvensis</i>	2,0 e	96,40

* Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot, a 5% de probabilidade. + corresponde ao estímulo à germinação de urediniósporos.

Na Tabela 8 são apresentados os percentuais obtidos no Experimento VI, em que foram utilizados óleos essenciais e dois extratos vegetais remanescentes. Dos extratos vegetais utilizados neste experimento, ambos apresentaram efeito de estimulação na germinação. O extrato de *Melissa officinalis* apresentou 46,0% de germinação, o que significa em 100% de estímulo e, para o extrato de *Urtica dióica*, foi detectado um estímulo de quase 11,0% na germinação, comparado com a testemunha-água.

Para os óleos essenciais utilizados, todos apresentaram resultados na inibição da germinação dos urediniósporos, estatisticamente diferentes da água, destacando-se os óleos essenciais de *Caryophilus aromaticus*, *Cymbopogon citratus* e *Rosmarinus officinalis*, com inibição de 78,26%, 76,08% e 76,08%, respectivamente.

TABELA 8. Percentagem de germinação de urediniósporos de *P. pachyrhizi*, no experimento VI, sob o efeito de extratos vegetais e óleos essenciais. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Extrato vegetal e óleo essencial - nome científico	% urediniósporos germinados	% de germinação comparada com água destilada
<i>Urtica dióica</i>	46,0 a*	+100,00
<i>Melissa officinalis</i>	25,5 b	+10,86
Água destilada	23,0 b	0,00
Tween 20 a 0,7%	10,0 c	56,52
<i>Eucalyptus citriodora</i>	8,0 c	65,21
<i>Piper aduncum</i>	6,5 c	71,74
<i>Rosmarinus officinalis</i>	5,5 c	76,08
<i>Cymbopogon citratus</i>	5,5 c	76,08
<i>Caryophilus aromaticus</i>	5,0 c	78,26

* Médias seguidas da mesma letra, não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knot, a 5% de probabilidade. + corresponde ao estímulo à germinação de urediniósporos.

Para diversos fungos, o óleo essencial do gênero *Piper* sp. é efetivo na inibição de esporos. A espécie avaliada neste experimento foi *Piper aduncum*, apresentando um bom percentual de inibição (71,74%).

Bastos (2001) verificou que a atividade do óleo essencial de *P. enckea* sobre a germinação de conídios de *Crinipellis pernicioso* e *Phytophthora palmirosa* foi 100% em concentrações acima de 1.000 ppm. Paralelamente,

Bastos & Albuquerque (2004) identificaram que o óleo essencial de *P. aduncum* causou inibição total da germinação de conídios de *Colletotrichum musae* em concentrações superiores a 0,01% (v/v). Essa mesma planta e também *Lippia sidoides*, tanto na forma de extrato como o óleo essencial, foram efetivas para a inibição do fungo *Lasiodiplodia theoromae* (Mota et al., 2001).

O óleo essencial de *E. citriodora* também apresentou potencial de inibição, com um percentual de 65,2%. De acordo com Bonaldo et al. (1998), quando o extrato aquoso dessa espécie de planta foi utilizado, ocorreu um estímulo à germinação de conídios de *C. graminicola*, embora tenha reduzido entre 14% e 34% a formação de apressórios em concentração do extrato acima de 10%. Em outro trabalho, Bonaldo et al. (2004) verificaram que a germinação de conídios de *Colletotrichum lagenaria* foi inibida em mais de 90% na presença de extratos autoclavados de *E.citriodora*, enquanto que, para o extrato não autoclavado, a inibição máxima foi de 75%.

Na literatura, são citados vários trabalhos com o objetivo de avaliar o efeito de extratos vegetais e óleos essenciais na germinação de diversos fungos, mas, para o agente causal da ferrugem asiática da soja, *P. pachyrhizi*, pouco foi realizado.

Medice et al. (2007) observaram que tanto o óleo essencial de citronela como os óleos essenciais de *E. citriodora*, *Azadirachta indica* (nim) e *Thymus vulgaris* (tomilho), nas concentrações 0,5%, 1%, 1% e 0,3 %, foram capazes de inibir em 100% a germinação de uredinósporos *P. pachyrhizi*.

Neste experimento, observou-se que a atividade inibitória do óleo de *E. citriodora* foi alta, mesmo na concentração de 0,1%.

6 CONCLUSÕES

Dentre os extratos vegetais testados, dez apresentaram percentagem de germinação de urediniósporos abaixo de 15%, destacando-se os extratos de *Mentha arvensis*, *M. pulegium*, *Lavandula officinalis*, *Pelargonium* sp. e *Salvia officinalis*, com inibição da germinação de 96,40%, 94,60%, 92,80%, 88,88% e 87,05%, respectivamente, comparados às respectivas testemunhas com água destilada, em cada experimento.

Outros extratos vegetais apresentaram efeito estimulatório da germinação. Foram eles: os extratos de *Tília cordata*, folha de *Sambucus nigra*, fruto de *Jatropha curcas* e *Coix lacryma-jobi* que apresentaram, respectivamente, 178,0%, 157,40%, 155,5% e 150,0% de estímulo da germinação, comparados com a testemunha-água.

Os óleos essenciais avaliados apresentaram resultados satisfatórios, tendo os óleos essenciais de *Caryophilus aromaticus*, *Cymbopogon citratus* e de *Rosmarinus officinalis*, comparados à testemunha-água, apresentado percentuais de inibição de 78,26%, 76,08% e 76,08%, respectivamente.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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: I. avaliação *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 3, p. 310-314, maio/jun. 2006.

BASTOS, C. N. Efeito fungitóxico do óleo de *Piper enckea* sobre *Crinipellis perniciosa* e *Phytophthora palmirosa in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 417, ago. 2001. Resumo.

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeito do óleo *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotricum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 555-557, set./out. 2004.

BERNARDO, R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; PASCHOLATI, S. F. Fungitoxicidade de alguns óleos essenciais contra fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 227, 1998. Resumo.

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; PASCHOLATI, S. F. Inibição do crescimento micelial de fungos fitopatogênicos e indução de fitoalexinas por *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 229, 1998. Resumo.

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TESSMANN, D. J.; SCAPIM, C. A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 128-134, 2004.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANNUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Programa e Resumos...** São Carlos: UFScar, 2000. p. 235.

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

GRIFFIN, D. H. **Fungal physiology**. 2th ed. New York: Wiley-Liss, 1994.

KARAVAEV, V. A.; SOLNTSEV, M. K.; YURINA, T. P.; YURINA, E. V.; POLYAKOVA, I. B.; KUZNETSOV, A. M. Antifungal activity of aqueous extracts of the leaves of cowparsnip and comfrey. **Biology Bulletin**, Moscow, v. 28, n. 4, p. 365-370, 2001.

LUCAS, J.; KNIGHTS, I. Spores on leaves: endogenous and exogenous control of development. In: PEGG, G. F.; AYRES, P. G. (Eds.). **Fungal infection of plants**. Cambridge: Cambridge University, 1987. p. 45-59.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; MAGNO JÚNIOR, R. G.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, jan./fev. 2007.

MOTA, J. C. O.; PESSOA, M. N. G.; VIANA, F. M. P. Efeito de extratos e óleos essenciais de plantas medicinais no controle de *Lasiodiplodia theobromae* *in vitro*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 400, 2001. Resumo.

SALUSTIANO, M. E.; FERRAZ FILHO, A. C.; POZZA, E. A.; CASTRO, H. A. Extratos de candeia (*Eremanthus erythopappus* (DC) MacLeish) na inibição *in vitro* de *Cylindrocladium scoparium* e quatro gêneros de uredinalis. **Cerne**, Lavras, v. 12, n. 2, p. 189-193, 2006.

SHOLBERG, P. L.; GAUNCE, A. P. Fumigation of fruit with acetic acid to prevent postharvest decay. **Horticultural Science**, Stuttgart, v. 30, p. 1271-1275, 1995.

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, v. 28, p. 54-56s, 2003. Suplemento.

TESSMANN, D. J.; DIANESE, J. Hentriacontano: um hidrocarboneto obtido de folhas de *Syzygium jambos* com efeito estimulante sobre a germinação de urediniosporos de *Puccinia psidii*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 5, p. 538-542, set./out. 2002.

ZAMBENEDETTI, E. B. **Preservação de *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow e aspectos epidemiológicos e ultra-estruturais da sua interação com a soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CAPÍTULO 3

SEVERIDADE DA FERRUGEM-ASIÁTICA DA SOJA EM PLANTAS TRATADAS COM EXTRATOS VEGETAIS, EM CASA DE VEGETAÇÃO

1 RESUMO

BORGES, Daniella Ines. Severidade da ferrugem-asiática da soja em plantas tratadas com extratos vegetais, em casa de vegetação. In: **Óleos e extratos vegetais no controle da ferrugem-asiática da soja (*Glycine max* (L.) Merrill).** 2007. Cap. 3, p.48-70. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

O efeito de extratos vegetais foi avaliado *in vivo* no controle da ferrugem-asiática da soja, em duas cultivares, a MG/BR 46, considerada suscetível e BRS 134, moderadamente resistente e dois genótipos de plantas (PIs), com genes de resistência *Rpp2* e *Rpp4*. As plantas foram pulverizadas 7 dias antes e 7 dias após a inoculação, com os extratos a 1,0% de *Tilia cordata*, *Pelargonium* sp., *Lavandula officinalis* e *Mentha pulegium*. Como testemunha utilizaram-se água destilada e um fungicida à base de Piraclostrobina + Epoxiconazol. As plantas foram mantidas em vasos de 3 litros e o experimento foi conduzido em blocos ao acaso. Foram feitas 4 avaliações, sendo a severidade baseada em escala diagramática e no número de lesões/cm² e, na última avaliação, foi realizada a contagem do número de soros urediniais/0,5cm² em microscópio estereoscópio. Para as análises de severidade, não foi observado efeito dos tratamentos; já para o número de soros urediniais, o efeito dos tratamentos foi evidenciado. A variável cultivar mostrou-se significativa para todas as avaliações, pelo teste Tukey (P≤0,05). O genótipo PI 459025, com gene de resistência *Rpp4*, foi o que obteve os melhores resultados para todos os itens avaliados. Mesmo apresentando efeito de inibição e de estímulo *in vitro*, não foi observado nenhum efeito dos extratos sobre a germinação dos urediniósporos *in vivo*, pois os mesmos foram capazes de penetrar na folha, causando a doença.

* Comitê de orientação: Eduardo Alves – UFLA (Professor Orientador), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA.

2 ABSTRACT

BORGES, Daniella Ines. Severity of the Asian soybean rust in plants dealt with plants extracts in green house. In: **Vegetal essential oils and extracts in the control of the Asian rust soybean (*Glycine max* (L.) Merrill.)**. 2007. Cap. 3, p.48-70. Dissertation (Master in Phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG.*

The effects of the vegetal extract were evaluated *in vivo*, in the control of the Asian rust soybean, in two soybean cultivars, the MG/BR 46, considered susceptible and the BRS 134, moderately resistant and two genotypes (PI's), with genes of resistance *Rpp2* and *Rpp4*. The plants were sprayed 7 days before and 7 days after the inoculation, with the extracts with 1,0% of the *Tilia cordata*, *Pelargonium* sp., *Lavandula officinalis* and *Mentha pulegium*. As control distilled water was used and one fungicide the base of Piraclostrobin + Epoxiconazol. The plants had been kept in pots of 3L and the experiment was lead in randomized block. Four evaluations had been made, being the severity, based on a diagrammatic scale and in the number of lesions/cm² and in the last evaluation, the number of uredinia/0,5cm² was counted in stereomicroscope. For the severity analyses, no effect of the treatments was observed; already for the number of uredinia the effect of the treatments was evidenced. The variable cultivar revealed significant for all the evaluations by the Tukey test ($P \leq 0,05$). The genotype PI 459025, with the gene of resistance *Rpp4* was the onewith the best resultes for all the parameters evaluated. Even presenting stimulation and inhibition effects *in vitro*, no effect was observed in the extracts on the germination of the urediniospores *in vivo*, therefore the same ones were capable to penetrate in the leaf, causing the disease.

* Advising Committee: Eduardo Alves – UFLA (Major Professor); Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

Na safra 2001/2002, uma epidemia de ferrugem asiática da soja foi detectada desde o Rio Grande do Sul até o Mato Grosso, causando perdas significativas em lavouras isoladas. Atualmente, essa doença representa a maior ameaça potencial, preocupando tanto a pesquisa quanto os produtores (Embrapa, 2003). Os estados de Minas Gerais e Mato Grosso foram os primeiros a registrar a ocorrência da ferrugem asiática, na safra de 2006/07 (Embrapa, 2006).

O aumento na incidência de *P. pachyrhizi* vem comprometendo severamente a produtividade da soja no Brasil, o que tem incentivado pesquisadores a buscarem soluções que possam ser relacionadas ao controle da doença. No Brasil, estudos realizados pela Embrapa Soja identificaram onze cultivares com resistência à ferrugem (Yorinori et al., 2002), sendo essa resistência quebrada rapidamente com isolado do fungo proveniente do Mato Grosso. Das quatro fontes de resistência já descritas na literatura, apenas aquelas com os genes *Rpp2* e *Rpp4* permanecem resistentes à ferrugem, no Brasil (Arias et al., 2004).

Apesar dos esforços na obtenção de cultivares resistentes, a utilização da proteção química para o controle das doenças é o método mais utilizado por agricultores.

Estima-se que os fungicidas sejam empregados no cultivo de metade da safra mundial de alimentos. O valor da produção de fungicidas chega a 50 milhões de dólares, representando cerca de 10% das vendas mundiais de agrotóxicos (Silva, 2000). Uma aplicação de fungicida contra ferrugem custa, em média, US\$40,00/ha. Considerando a ocorrência da ferrugem em 80% da área de soja no Brasil e uma média de duas aplicações de fungicida por hectare (embora no Mato Grosso, em algumas regiões, essa média tenha sido superior a

3 aplicações, inviabilizando a atividade), chega-se a um total de US\$1,42 bilhão. Se somado esse valor ao valor da perda em toneladas, chega-se ao total de US\$1,75 bilhão, que representa uma estimativa do impacto econômico da ferrugem da soja na safra 2005/2006 (Roessing, 2006).

Em longo prazo, a utilização de produtos químicos pode promover o surgimento de fitopatógenos resistentes e as conseqüências para o meio ambiente e a sociedade podem ser indesejáveis. Neste contexto, pesquisas têm sido direcionadas para métodos alternativos de controle de pragas e doenças, por meio de compostos químicos secundários presentes em extratos brutos ou óleos essenciais a partir de plantas medicinais nativas (Cimaga et al., 2001; Rizzati et al., 2002).

Segundo Schwan-Estrada et al. (2003), a exploração da atividade biológica de compostos secundários, como os óleos essenciais, pode se constituir, ao lado da indução de resistência, em mais uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de extratos vegetais na redução da severidade da ferrugem-asiática em casa de vegetação, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, em cultivares com diferentes níveis de resistência.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Plantas utilizadas e plantio

Foram utilizadas cultivares e dois genótipos de plantas (PIs), sendo a cultivar MG/BR 46 (Conquista) apresentada como suscetível; a BRS 134 foi relatada como resistente, mas sua resistência foi quebrada na safra 2002/03 por isolados do Mato Grosso, mas não por isolados de Minas Gerais e os PI 230970 e PI 459025, com o gene de resistência vertical *Rpp2* e *Rpp4*, respectivamente. Assim, foram semeadas em vasos de plástico de 3 kg, com substrato composto pela mistura de terra, areia e esterco (2:1:2), deixando-se duas plantas por vaso.

4.2 Preparo dos extratos vegetais

Os extratos vegetais foram selecionados a partir dos resultados dos experimentos *in vitro*, sendo o extrato de *Tília cordata*, com efeito na estimulação da germinação e os extratos de *Pelargonium* sp., *Lavandula officinalis* e *Mentha pulegium*, com efeito inibitório da germinação.

A preparação dos extratos vegetais seguiu a mesma metodologia inicial realizada para os testes *in vitro*. Para a solução final, foram tomados 0,28 g do extrato bruto dissolvido em 50 mL de solução aquosa de Tween 20 a 0,7%. Para a pulverização sobre as plantas, foi utilizada uma solução de 1,0% de extratos vegetais em água destilada.

4.3 Preparo do inóculo

Os urediniósporos foram coletados de folhas da cultivar MG/BR 46 com os sintomas da doença, pelo método da batida utilizado por Zambenedetti (2005). Logo após, os urediniósporos foram suspensos em água destilada contendo 2mL Tween 20 a 0,7%. Foi preparada uma suspensão de

urediniósporos na concentração de 2mg/5mL (em média de 2×10^4 urediniósporos/mL), que foi pulverizada sobre as plantas. Após a inoculação, as plantas foram mantidas em casa de vegetação, sob câmara úmida, por um período de 12 horas.

4.4 Delineamento experimental e condução do experimento

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados, em esquema fatorial 6x4, constituído por seis tratamentos, sendo: 4 extratos vegetais + 2 testemunhas, das quais uma composta por uma solução de 2mL de Tween 20 a 0,7% + 100mL de água destilada e a outra, um fungicida à base de Piraclostrobina + Epoxiconazol (Opera[®]), na concentração de 0,067mL/50mL de água destilada e 4 genótipos, sendo duas cultivares, MG/BR 46 e BRS 134 e duas introduções, PI 230970 e PI 459025, com três repetições. No total, foram 72 vasos com duas plantas cada um.

A primeira pulverização dos tratamentos foi realizada no momento em que as plantas apresentavam dois pares de folhas trifoliadas expandidas e foram novamente pulverizados 7 dias após a inoculação com os urediniósporos.

Adubação com uréia, como fonte de nitrogênio, foi realizada conforme a necessidade da cultura. A irrigação foi realizada constantemente e, na casa de vegetação onde o experimento foi conduzido, o nebulizador era acionado sempre que a umidade caísse a 75%, mantendo-se a umidade constante, fator essencial para a germinação e infecção do fungo (Marchetti et al., 1976).

Os vasos foram mantidos em casa de vegetação até o final do experimento.

4.5 Análise dos dados

Foi analisada a severidade, baseada na escala diagramática proposta por Godoy et al. (2006) e no número médio de lesões/cm², tendo a contagem sido

realizada dentro de uma área demarcada por um pedaço de papel com um orifício de 1cm², conforme metodologia utilizada por Zambenedetti (2005).

Foram utilizados folíolos centrais do trifólio do terço médio, tomando-se um por planta. As avaliações foram feitas a cada sete dias, num total de quatro. Na última avaliação, a folha central do trifólio demarcada foi retirada e levada ao microscópio estereoscópio, para a contagem do número de soros urediniais utilizando uma área de 0,5cm², demarcada com um pedaço de papel.

Os dados da severidade foram integrados usando-se a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para avaliação baseada na escala diagramática (AACPS) e para a avaliação baseada no número de lesões/cm² (AACPNL), de acordo com Campbell & Madden (1990), calculados pela fórmula:

$$AACPD = \sum_i^{n-1} \left(\frac{x_i + x_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i)$$

em que: n é o número de avaliações, x é a proporção de doença e $(t_{i+1} - t_i)$ é o intervalo de avaliações consecutivas.

As análises foram feitas no programa Sisvar (Ferreira, 2000). As variáveis significativas no teste F, da análise de variância, foram comparadas pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$) e os gráficos foram plotados no programa Microsoft[®] EXCEL 2003.

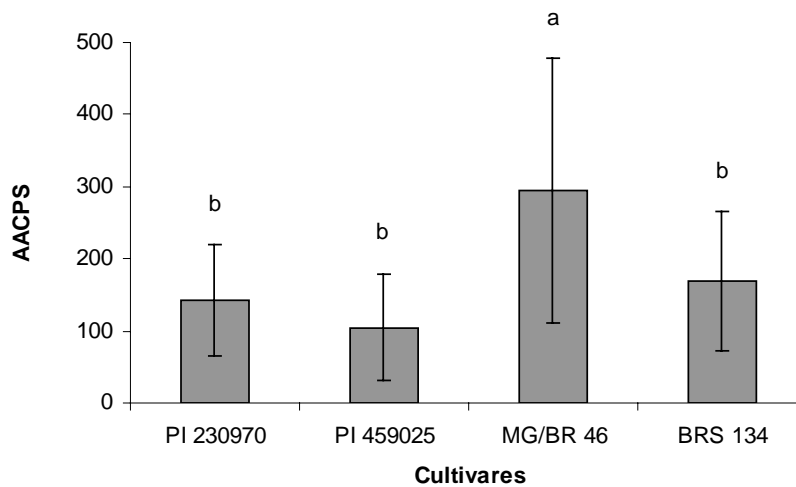
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Reação de plantas de soja, com diferentes níveis de resistência, sob o efeito de extratos de plantas, inoculadas com *Phakopsora pachyrhizi*

De acordo com as análises estatística, não houve diferença significativa, a 5%, para a interação cultivar x tratamento; o mesmo ocorreu para a variável tratamento (Tabelas 1B, 2B, 3B e 4B). Já para a avaliação no número de soros uredinais/0,5cm², o resultado mostrou-se significativo (Tabela 5B). Houve diferença significativa para as diferentes cultivares, para os três itens avaliados.

A cultivar MG/BR 46, considerada suscetível à ferrugem asiática, apresentou as maiores médias para os itens avaliados, considerando amostras retiradas da parte superior e inferior das plantas. De modo geral, o genótipo PI 230970, com gene de resistência *Rpp2* e a cultivar BRS 134, considerada moderadamente resistente, apresentaram resultados semelhantes, diferenciando-se estatisticamente apenas para a avaliação do número de soros uredinais.

Na análise da AACPS, nas folhas superiores, os resultados mostraram diferenças significativas (Figura 1). A cultivar MG/BR 46 foi a que apresentou maior índice de severidade, tendo as demais cultivares apresentado resultados semelhantes, mesmo apresentando níveis de resistência diferentes. O genótipo PI 459025, com gene de resistência *Rpp4*, apresentou valor estatisticamente semelhante ao genótipo PI 230970 e à cultivar BRS 134. As médias encontradas para cada tratamento podem ser visualizadas na Tabela 6B.

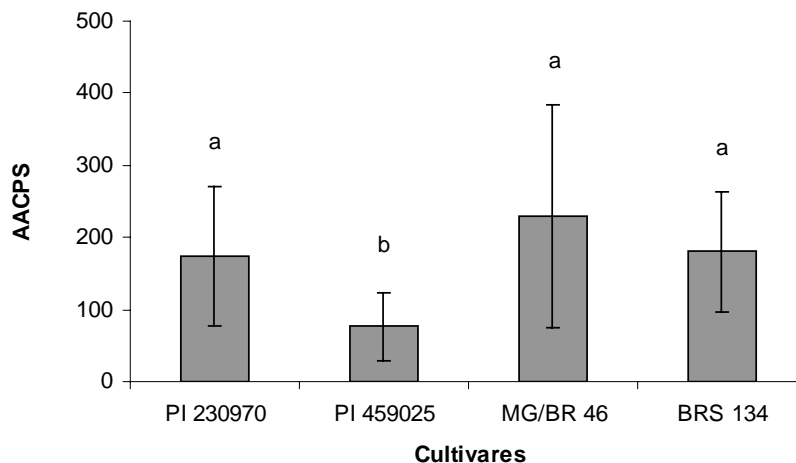


* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 5%. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FIGURA 1. Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS), em folhas superiores, da ferrugem da soja, sob o efeito de extratos de plantas, em quatro cultivares de soja com diferentes níveis de resistência.

Já para a avaliação da AACPS, nas folhas inferiores (Figura 2), os resultados foram diferentes. A cultivar suscetível manteve-se com altos valores para AACPS e semelhante, estatisticamente, ao genótipo PI 230970 e a cultivar BRS134. O genótipo PI 459025 foi estatisticamente diferente das demais, apresentando um baixo valor para AACPS (76,65).

A cultivar BRS134 e o genótipo PI 230970, mesmo apresentando níveis de resistência diferente, se comportaram de forma semelhante. Os resultados encontrados para as folhas inferiores, na análise da AACPS, diferiram apenas de 3,8%.



* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 5%. UFLA, Lavras, MG, 2007.

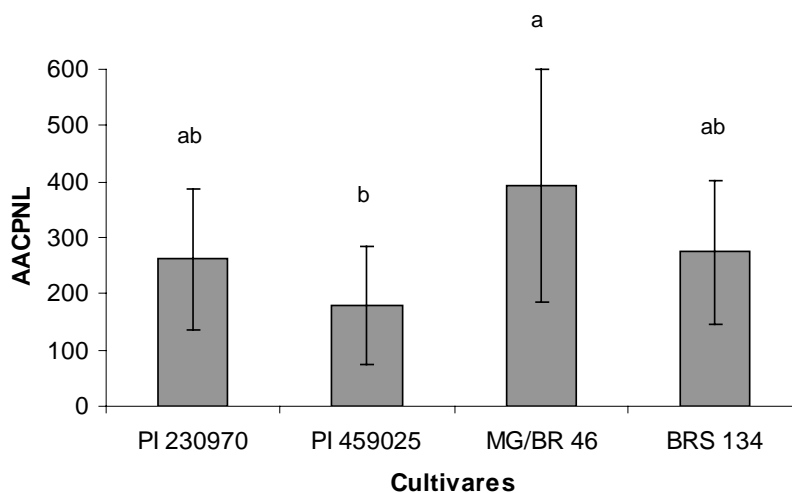
FIGURA 2. Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS), em folhas inferiores, da ferrugem da soja, sob o efeito de extratos de plantas, em quatro cultivares de soja com diferentes níveis de resistência.

Diversos trabalhos com extratos e óleos essenciais vegetais têm apresentado efeitos sobre doenças causadas por fungos da classe uredinales, porém, poucos com o patossistema *P. pachyrhizi* x soja. Medice et al. (2007), em casa de vegetação, observaram que os óleos essenciais de eucalipto-citriodora, citronela, nim e tomilho retardaram a evolução da doença, quando comparado com a testemunha, tendo a média da redução da severidade sido de 51,0%.

A ação fungitóxica do óleo essencial de tomilho a 20%, foi observada em trabalhos anteriores, realizados com *Pseudoperonospora cubensis*, agente causal de míldio em pepino (*Cucumis sativus* L.), em casa de vegetação. Os

resultados foram significativamente diferentes da testemunha, mostrando a eficiência fungitóxica do óleo essencial de tomilho (Almada et al., 1998).

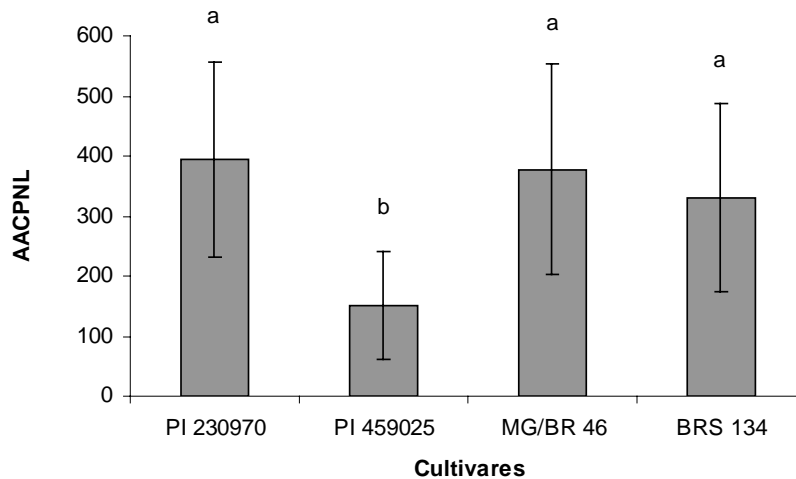
Na análise da AACPNL, para folhas superiores (Figura 3), a cultivar MG/BR 46 foi estatisticamente diferente das demais cultivares, apresentando a maior média (393,56). O genótipo PI 230970 e a cultivar BRS 134 não apresentaram diferença estatística entre si, mas também foram estatisticamente semelhantes às demais. O genótipo com gene de resistência *Rpp4* foi estatisticamente diferente das demais, apresentando um valor para AACPNL de 179,28. As médias encontradas para cada tratamento encontram-se na Tabela 8B.



*Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 5%. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FIGURA 3. Área abaixo da curva do progresso do número de lesões/cm² (AACPNL), em folhas superiores, da ferrugem da soja, sob o efeito de extratos de plantas, em quatro cultivares de soja com diferentes níveis de resistência.

Analisando as médias da AACPNL, para folhas inferiores, pode-se observar que, para as cultivares MG/BR 46, BRS 46 e o genótipo PI 230970, os resultados foram estatisticamente semelhantes, com valores muito aproximados, em média, de 368,08 (Figura 4).



* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 5%. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FIGURA 4. Área abaixo da curva do progresso do número de lesões/cm² (AACPNL), em folhas inferiores, da ferrugem da soja, sob o efeito de extratos de plantas, em quatro cultivares de soja com diferentes níveis de resistência.

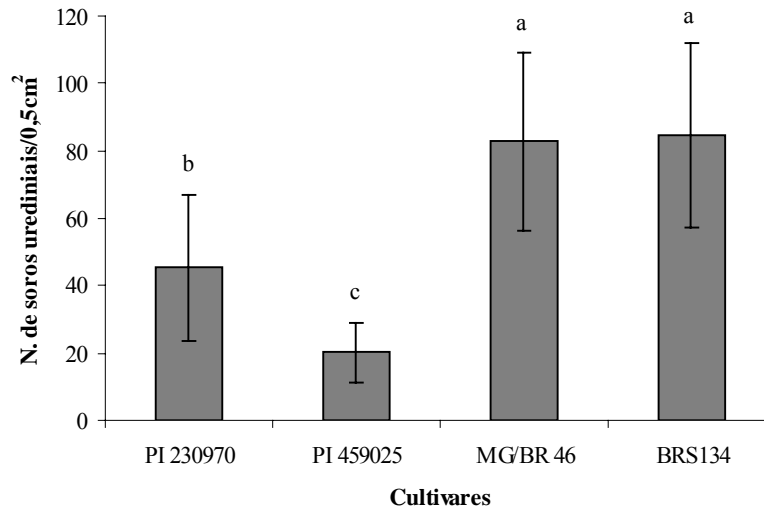
Considerando o estudo da severidade e do número de lesões, para ambas as partes da planta, os resultados estão de acordo, tendo o genótipo PI 459025 se mostrado resistente, apresentando sempre menores médias para todas as avaliações. As demais também se comportaram de forma semelhante em todas

as avaliações, tendo a cultivar MG/BR 46, considerada suscetível ao patógeno, apresentado sempre as maiores médias em todas as avaliações.

Na quarta avaliação, as folhas demarcadas foram tomadas e levadas ao microscópio estereoscópio, em que foi avaliado no número de soros urediniais/0,5cm². Os dados da análise estatística encontram-se na Tabela 6B.

As cultivares MG/BR 46 e BRS 134 foram estatisticamente semelhantes entre si, o que não ocorreu na análise das folhas superiores da AACPS. As médias do número de soros urediniais encontrados foram de 83,00 e 84,47, respectivamente

As médias encontradas para os genótipos com genes de resistência (PI 230970 e PI 459025) foram estatisticamente diferentes entre si e também diferentes estatisticamente das demais testadas. Para o genótipo PI 230970, o número médio de soros urediniais encontrados foi de 45,60, um resultado satisfatório, comparado à cultivar MG/BR46, que obteve, em média, 83 soros urediniais por área analisada.



* Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 1%. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FIGURA 5. Média no número de soros urediniais/0,5 cm², encontrados em folhas de soja com diferentes níveis de resistência à ferrugem-asiática da soja, sob efeito de extratos de plantas.

5.2 Efeito dos extratos vegetais sobre a ferrugem-asiática da soja, em plantas de soja com diferentes níveis de resistência

A análise estatística para a variável tratamento foi não significativa ($P \leq 0,05$) para AACPS e AACPNL (Tabela 1). Já para o número de soros urediniais, os tratamentos foram significativos ($P \leq 0,05$). As médias encontradas podem ser visualizadas na Tabela 10B.

Neste experimento, o efeito dos extratos não pode ser evidenciado para ambos os índices de severidade. Produtos de origem vegetal têm sido amplamente empregados em diversos patossistemas. Entretanto, acredita-se que a dosagem aplicada não tenha sido a necessária, já que alguns dos extratos

apresentaram efeito *in vitro*. Estudos adicionais são sugeridos para esclarecer essa dúvida.

Segundo Altoe et al. (2006), o extrato aquoso de capim-limão (*Cymbopogon citratus*) foi capaz de reduzir o número de lesões e a área lesionada em folhas de plântulas de pepino “japonês” inoculadas com *Colletotrichum langenarum*. O mesmo foi observado na primeira folha superior, evidenciando o potencial de indução de resistência local e sistêmica. Sobre o mesmo patossistema, o extrato aquoso de eucalipto-citriodora, não autoclavado, apresentou potencial para induzir resistência local (Bonaldo et al., 2004).

TABELA 1. Médias das análises de severidade baseadas na escala diagramática (AACPS) e no número de lesões/cm² (AACPNL). UFLA, Lavras, MG, 2007.

Tratamento	Itens avaliados	
	AACPS*	AACPNL*
<i>Tília cordata</i>	190,64 a**	315,29 a
<i>Pelargonium sp.</i>	173,04 a	318,20 a
<i>Lavandula officinalis</i>	161,20 a	297,64 a
<i>Mentha pulegium</i>	161,20 a	290,50 a
Água destilada	158,35 a	305,85 a
Fungicida	192,52 a	292,97 a

* Médias de três avaliações;

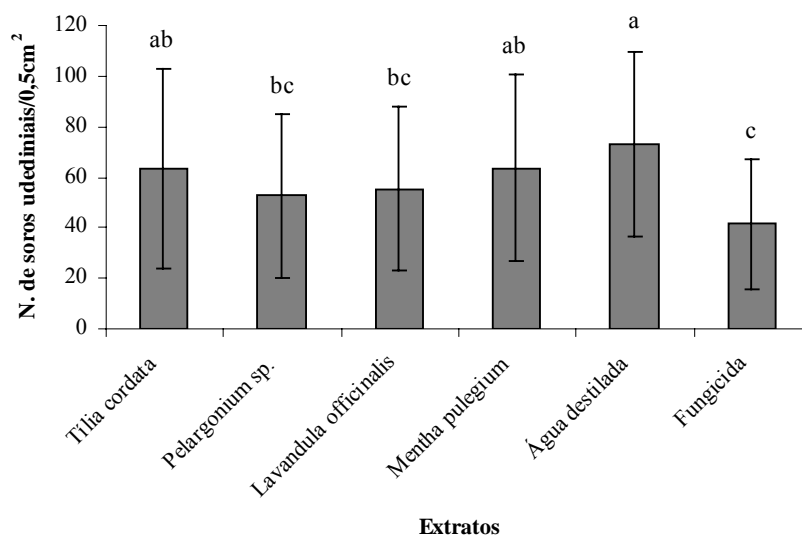
** Médias com mesma letra, na coluna, não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

O número médio de soros urediniais encontrados no tratamento com somente água foi de 73, sendo este estatisticamente semelhantes aos tratamentos com os extratos obtidos de *Tília cordata* e *Mentha pulegium*, com média de 63 soros urediniais (Figura 6). Em experimento *in vitro*, esses extratos apresentaram resultados diferentes. O extrato de *Tília cordata* foi capaz de estimular a germinação dos urediniósporos em 178,00%, fato muito importante considerando a característica dos urediniósporos de *P. pachyrhizi* de apresentarem dormência.

O extrato obtido de *Mentha pulegium*, juntamente com os extratos de *Pelargonium* sp. e *Lavandula officinalis*, apresentou, *in vitro*, alto potencial para a inibição da germinação de urediniósporos com, respectivamente, 94,5%, 88,0% e 93,0%, comparados com a testemunha-água, o que não ocorreu com a redução da severidade da doença em casa de vegetação.

O extrato obtido de *Pelargonium* sp. e *Lavandula officinalis* foram estatisticamente semelhantes ao tratamento com fungicida que, mesmo pulverizado abaixo da dosagem recomendada pelo fabricante para a cultura, apresentou um valor médio de 41 soros urediniais por área analisada.

As plantas foram mantidas em casa de vegetação até a última avaliação. A severidade da doença evoluiu rapidamente e, para a cultivar MG/BR 46, causando uma quase que total desfolha. As folhas que permaneceram encontravam-se totalmente tomadas pela doença. Nas cultivares com genes de resistência, a desfolha foi parcial.



Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem estatisticamente, pelo teste Tukey, a 1%. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FIGURA 6. Média no número de soros urediniais/0,5 cm² encontrados em folhas de soja com diferentes níveis de resistência à ferrugem-asiática da soja, sob efeito de extratos de plantas.

Para a cultivar BRS 134, considerada moderadamente resistente, a desfolha das plantas foi branda, fazendo com que se mantivessem por mais tempo em casa de vegetação. Tal fato pode ser devido à aplicação de extratos vegetais, conforme também foi observado em experimento semelhante por Medice et al. (2007).

O extrato de *Mentha pulegium* não foi capaz de reduzir a severidade da ferrugem-asiática em plantas de soja, mas, em testes *in vitro*, reduziu a germinação em 94,5%, comparado à testemunha-água e também reduziu o número médio de soros urediniais em 13,7%.

Efeito positivo foi encontrado por Cruz et al. (2000). Estudando extratos aquosos de *Mentha piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Ocimum basilicum* e *Origanum vulgare* contra *Sclerotium rolfsii* em feijoeiros, *in vivo* esses autores verificaram um bom desenvolvimento das plantas tratadas com os extratos em concentração de 40%.

A diferença entre o extrato e o óleo essencial está na extração. O extrato é obtido pela fervura de partes vegetais e o óleo é extraído por vários métodos de destilação e o mais comum é o arraste a vapor ou hidrodestilação. O óleo resulta em uma substância mais concentrada, utilizada em experimentos *in vivo* e *in vivo*, em baixas soluções com baixas concentrações. Isso pode explicar as diferenças observadas neste estudo, em que a concentração foi de 1%, considerada baixa em relação aos outros trabalhos apresentados.

6 CONCLUSÕES

Na análise da AACPS e da AACPNL, tanto para as folhas superiores como também para as folhas inferiores, foi observado menor índice para o genótipo PI 459025.

Em relação ao número de soros uredinais, verificou-se significância para as variáveis cultivares e tratamento. O genótipo PI 459025 novamente destacou-se, apresentando a menor média de soros uredinais por área analisada.

Os extratos vegetais obtidos de *Pelargonium* sp. e de *Lavandula officinalis* foram os que apresentaram as menores médias de soros uredinais formados, em folhas de soja, com diferentes níveis de resistência.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMADA, C. B. J.; LIMA, C. Z. R. L. Z.; POSSAMAI, C. J. Controle alternativo do Míldio (*Pseudoperonospora cubensis* Berk e Curt) em pepino (*Cucumis sativus* L). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 23, p. 294, 1998. Resumo.

ALTOE, A. E. B.; BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; GARCIA, F. C.; CONSTANTINO, A. P. B.; VIDA, J. B. Indução de resistência em pepino “japonês” a *Colletotrichum lagenarium* por plantas medicinais. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 207, 2006. Resumo.

ARIAS, C. A. A.; RIBEIRO, A. S.; YORINORI, J. T.; BROGIN, R. L.; OLIVEIRA, M. F.; TOLEDO, J. F. F. Inheritance of resistance of soybean to rust (*Phakospora pachyrhizi* Sidow). In: WORLD SOYBEAN RESEARCH CONFERENCE, 2004, Foz do Iguaçu, PR. **Anais...** Foz do Iguaçu: UFPR, 2004. p. 100.

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TESSMANN, D. J.; SCAPIM, C. A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 2, p. 128.134, 2004.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: J. Wiley, 1990.

CIMAGA, K.; KAMBU, K.; TONA, L.; APERS, S.; BRUYNE, T. de; HERMANS, N.; TOTTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINK, A. J. Correlation between chemical composition and bacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, Clare, v. 79, n. 2, p. 213-220, Feb. 2001.

CRUZ, M. E. S.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; NUNES, E. S.; SUZUKI, F. F.; ORITA, M. N. Avaliação *in vivo* de extratos aquosos de *Rosmarinus officinallis*, *Ocimum basilicum*, *Mentha piperita* e *Origanum vulgare* sobre o fungo *Sclerotium rolfsii* em feijoeiro. In: ANUÁRIO DO CCA. PORTARIA 020/99-CCA, 3., 2000. **Anais...** [S.l.: s.n.], 2000.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Soja-sistema de produção**: doenças e medidas de controle. 2001. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnpti.embrapa.br/SojaCentralBrasil2003/doencas>>. Acesso em: 11 dez. 2006.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Soja-sistema de alerta**: relato ferrugem 2006, Minas Gerais. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/alerta>>. Acesso em: 6 dez. 2006.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANNUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos, SP. **Programa e Resumos...** São Carlos: UFScar, 2000. p. 235.

GODOY, C. V.; KOGA, L. J.; CANTERI, M. G. Diagrammatic scale for assessment of soybean rust severity. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 1, p. 63-68, jan./fev. 2006.

MARCHETTI, M. A.; MELCHING, J. S.; BROMFIELD, K. R. The effects of temperature and dew period on germination and infection by uredospores of *Phakopsora pachyrhizi*. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 66, n. 4, p. 461-463, Apr. 1976.

MEDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R. T.; MAGNO JÚNIOR, R. G.; LOPES, E. A. G. L. Óleos essenciais no controle da ferrugem asiática da soja *Phakopsora pachyrhizi* Syd. & P. Syd. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 83-90, jan./fev. 2007.

RIZZATI, M. A.; SCWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. de; STANGARLIN, J. R. Efeito do estrato bruto de *Achillea millefolium* (Mil-folhas) e de *Artemisia absinthium* (Losna) em *Alternaria* spp. In: SIMPÓSIO SOBRE A BIOTECNOLOGIA NA AGRICULTURA BRASILEIRA, PRESENTE E FUTURO, 2002, Maringá, PR. **Anais...** Maringá: UFPR, 2002.

ROESSING, A. C. **Impacto econômico da ocorrência da ferrugem da soja**. Disponível em: <<http://www.cnpso.embrapa.br/alerta>>. Acesso em: 6 dez. 2006.

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, v. 25, p. 54-56, 2003. Suplemento.

SILVA, R. A. **Avaliação de extratos vegetais na inibição “in vitro” de fungos fitopatogênicos.** 2000. 44 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica e Agrobioquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras.

YORINORI, J. T.; YORINORI, M. A.; GODOY, C. V. Seleção de cultivares de soja resistentes à ferrugem "asiática" (*Phakopsora pachyrhizi*). In: REUNIÃO SUL DE SOJA DA REGIÃO SUL, 30., 2002, Cruz Alta, RS. **Anais...** Cruz Alta: UFRGS, 2002. p. 94.

ZAMBENEDETTI, E. B. **Preservação de *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow e aspectos epidemiológicos e ultra-estruturais da sua interação com a soja (*Glycine max* (L.) Merrill).** 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CAPÍTULO 4

EXTRATOS VEGETAIS NA GERMINAÇÃO DE UREDINIÓSPOROS DE *Phakopsora pachyrhizi*: AVALIAÇÃO POR MEIO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

1 RESUMO

BORGES, Daniella Ines. Extratos vegetais na germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*: avaliação por meio da microscopia eletrônica de varredura. In: **Óleos e extratos vegetais no controle da ferrugem-asiática da soja (*Glycine max* (L.) Merrill)**. 2007. Cap. 4, p.71-87. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

Estudaram-se, por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV), folhas da cultivar MG/BR 46 e do genótipo PI 230970, inoculadas com urediniósporos de *P. pachyrhizi* e pulverizadas com extratos vegetais, pré-selecionados no experimento *in vitro*. Os extratos vegetais foram aplicados na concentração de 1% e, como testemunhas, foram utilizados água destilada e um fungicida à base de Piraclostrobina + Epoxiconazol. As folhas foram demarcadas com círculos de 0,5cm de diâmetro e dispostas em bandejas, sobre duas folhas de papel germiteste e uma folha de papel alumínio perfurada. Em seguida, foram pulverizados os tratamentos e, no centro de cada círculo, foi colocada uma gota de suspensão de esporos (2×10^4 esporos/mL). Depois, as bandejas foram cobertas com plástico transparente e colocadas em BOD, a 23°C, no escuro. Amostras foram coletadas nos tempos de 4, 6, 8, 12 e 24 horas após a inoculação e preparadas de acordo com a metodologia de rotina do Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultra-Estrutural do Departamento de Fitopatologia/UFLA. Analisando-se as eletromicrografias obtidas, foram encontrados diferentes formatos e tamanhos de esporos, tubos germinativos e apressórios. O efeito direto dos extratos vegetais não foi detectado, tendo, nas folhas das duas plantas, com nível de resistência diferente, sido encontrados esporos germinados, com exceção do tratamento com fungicida. Não ocorreram diferenças quanto à emissão do tubo germinativo, para as duas cultivares; apenas a formação do apressório foi retardada no genótipo PI 230970.

* Comitê de orientação: Eduardo Alves – UFLA (Professor Orientador), Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA.

2 ABSTRACT

BORGES, Daniella Ines. Effect of plant extracts in the germination of urediniospores of *Phakopsora pachyrhizi* - evaluation by Scanning Electron Microscopy. In: **Vegetal essential oils and extracts in the control of the Asian rust soybean (*Glycine max* (L.) Merrill.)**. 2007. Cap. 4, p.71-87. Dissertation (Master in Phytopathology) - Federal University of Lavras, Lavras, MG. *

It was studied through the Scanning Electron Microscopy (SEM), leaves of the cultivar MG/BR 46 and the genotype PI 230970, inoculated with urediniospores of *P. pachyrhizi* and sprayed with vegetal extracts, pre-selected at the experiment *in vitro*. The vegetal extracts had been applied at the concentration of 1% and as control had been used distilled water and a fungicide based on Piraclostrobin + Epoxiconazol (Opera[®]). The leaves had been demarcated with circles of 0,5cm of diameter, these had been disposed in trays, on two germiteste perforateed sheet of paper and an aluminum foil perforated. After that, the treatments had been sprayed and in the center of each circle, a drop of suspension with spores was placed (2×10^4 urediniospores/mL). After, the trays had been covered with transparent plastic and placed in BOD, at 23°C, in the dark. Samples had been collected in the times of 4, 6, 8, 12 and 24 hours after the inoculation and prepared in accordance with the methodology of routine in the Laboratory of Eletron Microscopy and Ultrastructural Analysis of the Plant Pathology Department/UFLA. Analyzing the electromicrographs made, different forms and sizes of spores , germinative tubes and appressories had been found. The direct effect of vegetal extracts was not detected, being that, in leves of the two plants, with level of different resistance, spores germinated were found, in exception at the treatment with fungicide. Differences had not occurred in relation to the emission of the germinative tube, for the two to cultivar, only the formation of the appressoria was late at the genotype PI 230970.

* Advising Committee: Eduardo Alves – UFLA (Major Professor); Mário Lúcio Vilela de Resende – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

O processo de reação compatível entre um fungo patogênico e seu hospedeiro inicia-se com a deposição do esporo sobre o tecido suscetível, seguida de germinação, formação e crescimento do tubo germinativo e o surgimento de estruturas que participam da penetração (Wynn, 1981).

A fase de pré-penetração, compreendida entre a deposição do esporo e a penetração, merece atenção, pois, definido o modo que as plantas são infectadas, ela possibilita a definição de estratégias que impeçam ou dificultem a penetração do patógeno. Assim, estudo dessa interação torna-se um recurso eficiente no estudo dos processos de infecção, possibilitando o entendimento da fisiologia da infecção, além de ser útil para o esclarecimento dos mecanismos de resistência do hospedeiro. Esses eventos têm sido estudados em microscópio eletrônico de varredura (Kropp et al., 1999; Graaf et al., 2002).

Os mecanismos de resistência a agentes patogênicos são amplamente conhecidos em diversos patossistema (Pascholati & Leite, 1995). Em princípio, esses mecanismos podem se expressar em qualquer estágio durante a patogênese (Rubiales & Niks, 1992) e as defesas podem ser de duas categorias: a estrutural, morfológica ou anatômica e a bioquímica ou fisiológica (Ingham, 1973). Os fatores estruturais da planta atuam como barreiras físicas, impedindo a entrada do patógeno e a colonização dos tecidos, enquanto as reações químicas produzem substâncias tóxicas ao patógeno ou criam condições adversas ao crescimento deste no interior do hospedeiro (Pascholati & Leite, 1995).

Quanto ao patossistema *P. pachyrhizi* x plantas de soja, alguns trabalhos foram realizados para estudar o desenvolvimento do fungo em folhas de cultivares de soja suscetível e descrever os vários eventos que ocorrem nessa interação (Bonde et al., 1976; Koch et al., 1983 e Zambenedetti, 2005).

As plantas de soja que apresentam resistência parcial, quando pulverizadas com óleos ou extratos vegetais, podem expressar níveis maiores de resistência, além de poder apresentar efeito direto sobre *P. pachyrhizi*, agente causal da ferrugem asiática ou atuarem como indutores de resistência. O estudo ultra-estrutural de plantas pulverizadas com óleos e extratos vegetais pode revelar os mecanismos pelos quais estas substâncias atuam na planta e no patógeno.

Portanto, este trabalho teve por objetivo avaliar a germinação de urediniósporos de *P. pachyrhizi*, inoculados em folhas destacadas de duas cultivares de soja, suscetíveis e resistentes, tratadas com extratos vegetais.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Plantas utilizadas e plantio

Foi utilizada a cultivar MG/BR 46 (Conquista), considerada suscetível à doença e um genótipo, com gene de resistência *Rpp2* (PI 230970). Suas sementes foram semeadas em vasos de plástico de 3kg, com substrato composto pela mistura de terra, areia e esterco (2:1:2).

4.2 Preparo dos tratamentos

Os extratos vegetais foram selecionados a partir dos resultados dos experimentos *in vitro*, sendo o extrato de *Tília cordata*, com efeito de estimulação da germinação e os extratos de *Pelargonium* sp., *Lavandula officinalis* e *Mentha pulegium*, com efeito inibitório da germinação.

A preparação dos extratos vegetais seguiu a mesma metodologia inicial realizado para os testes *in vitro*, tendo, para a solução final, sido tomados 0,28 g do extrato bruto dissolvido em 50 mL de solução aquosa de Tween 20 a 0,7%. Para a pulverização sobre as plantas, foi utilizada uma solução de 1,0% de extratos vegetais em água destilada.

Como testemunha foram utilizados uma solução composta por 2,0 mL de Tween 20 a 0,7% + 100mL de água destilada e um fungicida à base de Piraclostrobina e Epoxiconazol, na concentração de 0,067mL/50mL de água destilada.

4.3 Preparo do inóculo

Os urediniósporos de *P. pachyrhizi* foram coletados em plantas de soja da cultivar MG/BR 46, naturalmente infectada, pelo método da batida utilizado por Zambenedetti (2005). Logo após, os urediniósporos foram suspensos em

água destilada contendo Tween 20 a 0,7% (1mL/100mL). Foi preparada uma suspensão de urediniósporos na concentração de 2mg/5mL (em média de 2×10^4 urediniósporos por mL).

4.4 Condução do experimento

Após 30 dias de semeadura, folhas das duas cultivares na mesma idade foram coletadas. Essas folhas foram lavadas em água corrente e acomodadas em bandejas com papel Germitest umedecido com água destilada e coberto com papel alumínio perfurado, para permitir que os pecíolos fiquem em contato com ele. Em cada bandeja, foram colocadas 5 folhas de uma das cultivares de soja, juntamente com a aplicação de um tratamento, num total de 12 bandejas.

Em seguida, 5 discos de 0,5 cm de diâmetro foram desenhados com uma caneta de marca permanente, em cada folha a ser inoculada com a finalidade de facilitar os estudos de microscopia e, logo em seguida, foram pulverizados os tratamentos.

No centro de cada círculo, foi colocada uma gota, aproximadamente 50µl, de uma suspensão de 2×10^4 urediniósporos/mL, utilizando uma pipeta automática. Depois, as bandejas foram cobertas com plástico transparente e colocadas em câmara de crescimento com temperatura média de 23°C. Para a avaliação, foram coletadas amostras para preparação para microscopia eletrônica de varredura nos tempos de 4, 6, 8, 12 e 24 horas após a inoculação.

4.5 Preparação das amostras para microscopia eletrônica de varredura

A partir da área inoculada, demarcada com caneta de marca permanente, foram retirados pedaços de 0,5cm², sendo imersos em solução fixativa (Karnovsky modificado) com pH 7,2 e armazenados por um período mínimo de 24 horas em geladeira.

Após o período de armazenamento, as amostras foram lavadas em tampão cacodilato por três vezes, durante 10 minutos, para retirar os resíduos de glutaraldeído que podem reduzir o tetróxido de ósmio. Posteriormente, foram colocadas em tetróxido de ósmio 1% em água pelo período mínimo de 1 hora, sob temperatura ambiente, em uma capela, devido à alta volatilização do produto e por ser cancerígeno.

Subseqüentemente, as amostras foram desidratadas em uma série de soluções de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%, por três vezes) e, depois, levadas para o aparelho de ponto crítico para completar a desidratação utilizando CO₂. Depois, as amostras foram montadas em *stubs*, fixadas por uma fita de carbono dupla face colocada sobre uma película de papel alumínio, cobertos com ouro em aparelho evaporador com atmosfera de argônio e observados em microscópio eletrônico de varredura Leo Evo 40XVP. Foram geradas e registradas digitalmente, a aumentos variáveis, diversas imagens para cada amostra, nas condições de trabalho de 20 Kv e distância de trabalho de 20 mm.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com a análise das eletromicrografias obtidas, foram encontrados diferentes formatos e tamanhos de esporos, tubos germinativos e apressórios: urediniósporos arredondados, alongados, oblongos e murchos. Os tubos germinativos apresentaram diferenças quanto ao tamanho e à espessura, considerando a mesma observação para os apressórios. Em tubos germinativos curtos, o apressório formado apresentava com o tamanho semelhante ou superior ao esporo de origem. O contrário também ocorreu: em tubos germinativos longos, o apressório era pequeno em relação ao esporo de origem (Figura 1B, 1C, 2B e 2D).

De acordo com Hunt (1983), o tamanho do tubo germinativo e do apressório está diretamente relacionado com o modo de penetração utilizado pelo fungo, se é direta ou indireta. Assim, podem reduzir a quantidade de energia gasta com o crescimento do tubo germinativo para ser utilizada na penetração.

5.1 Germinação e formação do apressório de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, inoculados em folhas de soja de MG/BR 46 e PI 230970.

As avaliações foram realizadas em 4, 6, 8, 12 e 24 após a inoculação (h.a.i.) com urediniósporos de *P. pachyrhizi*, em folhas da cultivar MG/BR 46 (Conquista) e do genótipo PI 230970.

De acordo com as eletromicrografias, não ocorreram diferenças quanto à emissão do tubo germinativo, para ambos os níveis de resistência; apenas a formação do apressório foi retardada no genótipo PI 230970.

Para a cultivar MG/BR 46, 4 h.a.i., a maioria dos urediniósporos havia emitido o tubo germinativo e alguns já apresentaram a formação do apressório

(Figura 1). Esses resultados concordaram com relatos feitos por Bonde et al. (1976), que demonstraram que urediniósporos de *P. pachyrhizi* germinam em folhas de soja 1 a 2 h.a.i. e a formação do apressório ocorre de 2 a 5 h.a.i. No genótipo PI 230970, com gene de resistência *Rpp2*, 4 h.a.i., os esporos encontravam-se germinados, com tubos germinativos longos. Poucos encontravam-se com os apressórios formados (Figura 2).

O tratamento com fungicida retardou a germinação dos urediniósporos e, conseqüentemente, a formação de apressórios (Figura 3).

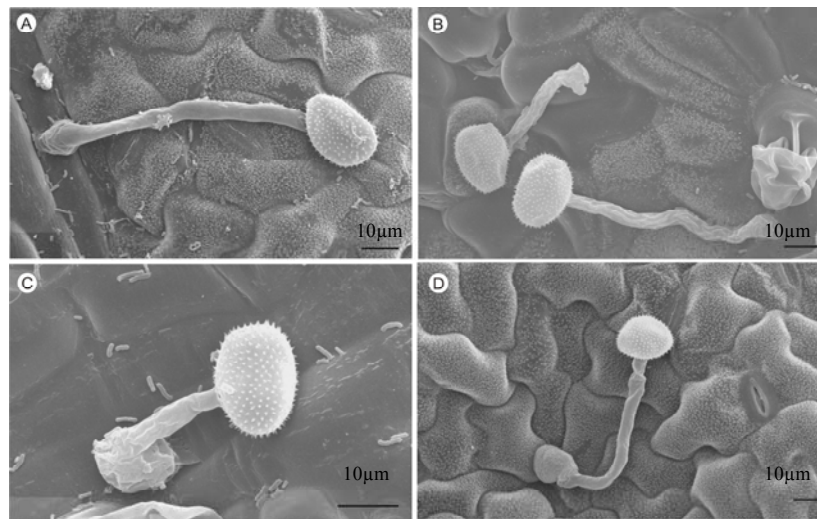


FIGURA 1. Eletromicrografias de varredura de folhas de soja da cultivar MG/BR 46, 4 h.a.i com *P. pachyrhizi*, pulverizadas com somente água destilada. UFLA, Lavras, MG, 2007.

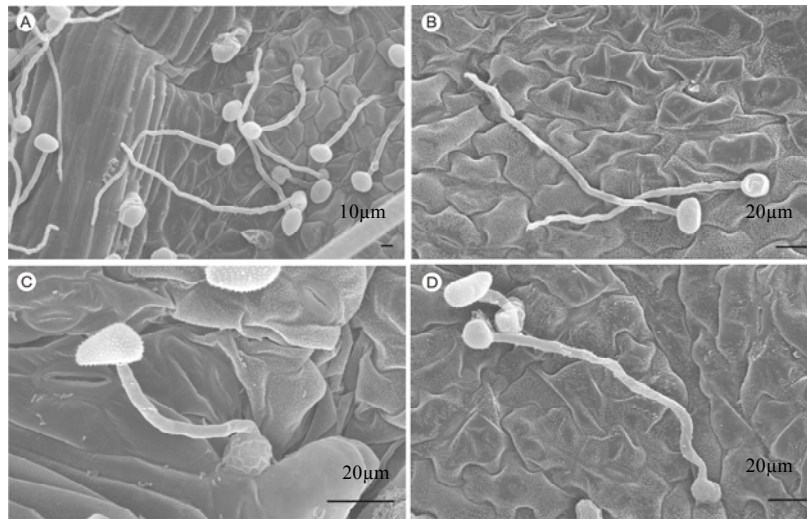


FIGURA 2. Eletromicrografias de varredura de folhas de soja do genótipo PI 230970, 4 h.a.i com *P. pachyrhizi*, pulverizadas com somente água destilada. UFLA, Lavras, MG, 2007.

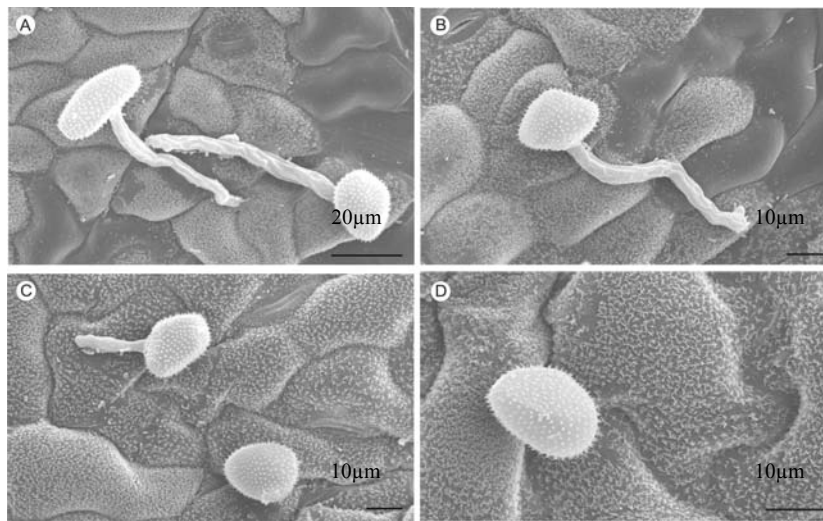


FIGURA 3 Eletromicrografias de varredura folhas de soja da cultivar MG/BR 46 (A: B) e do genótipo PI 230970 (C; D), 8 h.a.i com *P. pachyrhizi*, pulverizadas com fungicida. UFLA, Lavras, MG, 2007.

5.2 Efeito de extratos vegetais na germinação e na formação do apressório de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, inoculados em folhas de soja de MG/BR 46 e PI 230970.

O efeito de extratos vegetais (*Tília cordata*, *Pelargonium* sp., *Lavandula officinalis* e *Mentha pulegium*), pré-selecionados em testes *in vitro*, foi observado em eletromicrografias de folhas de cultivares de soja, com nível de resistência diferente, inoculadas com urediniósporos de *P. pachyrhizi*.

Apesar do efeito inibitório e de estímulo da germinação de urediniósporos, observados nos testes *in vitro*, os mesmos não puderam ser visualizados, sendo encontrados urediniósporos germinados e não germinados em todos os tratamentos (Figuras 4 e 5).

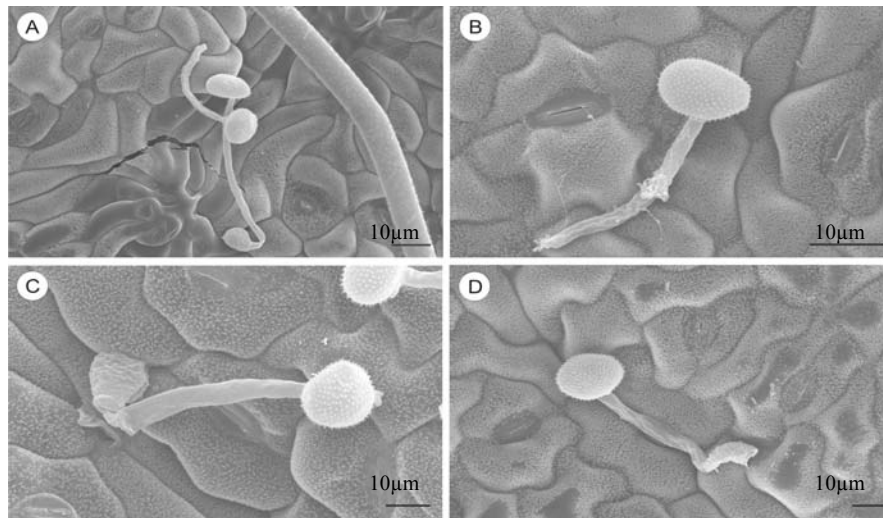


FIGURA 4. Eletromicrografias de varredura de folhas de soja da cultivar MG/BR 46, 4 h.a.i com *P. pachyrhizi*, sob o efeito de extratos vegetais. (A) *Tília cordata*; (B) *Pelargonium* sp.; (C) *Lavandula officinalis*; (D) *Mentha pulegium*. UFLA, Lavras, MG, 2007.

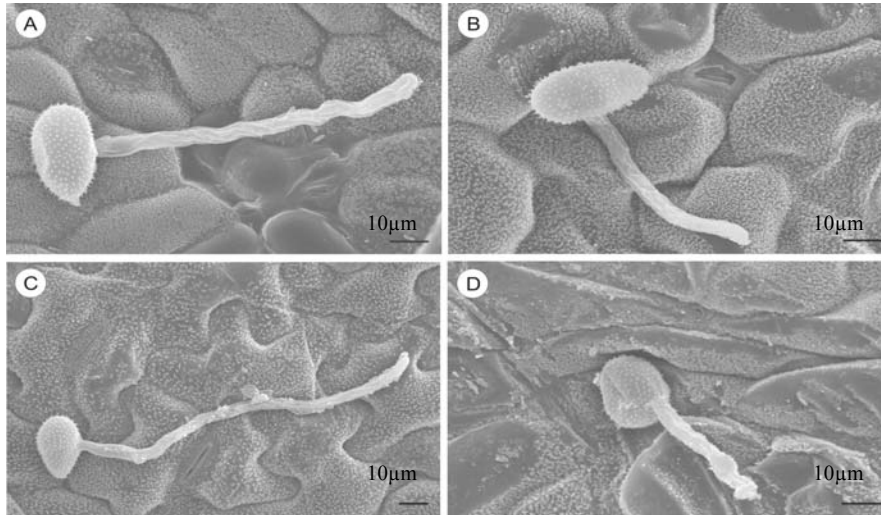


FIGURA 5. Eletromicrografias de varredura de folhas de soja do genótipo PI 230970, 4 h.a.i com *P. pachyrhizi*, sob o efeito de extratos vegetais. Legenda: (A) *Tilia cordata*; (B) *Pelargonium* sp.; (C) *Lavandula officinalis*; (D) *Mentha pulegium*. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Em testes *in vitro*, os extratos obtidos das plantas de *Pelargonium* sp., *Lavandula officinalis* e *Mentha pulegium* apresentaram um percentual de germinação de 3,0%, 4,0% e 3,0% respectivamente, com uma média de potencial de inibição de 92,0%, quando comparado com a testemunha-água. Tal efeito não foi observado em folhas destacadas, em ambas cultivares e resultados positivos somente foram encontrados em folhas pulverizadas com fungicida.

O extrato obtido de *Tilia cordata*, em testes *in vitro*, foi responsável por estimular a germinação dos urediniósporos em 178,0%, comparado com a testemunha-água. Esse efeito estimulatório não foi detectado em testes *in vivo* nem em folhas destacadas.

Conforme foi comprovado anteriormente, os extratos de *Pelargonium* sp., *Lavandula officinalis* e *Mentha pulegium* apresentaram potencial de inibição da germinação de esporos de *P. pachyrhizi* e o extrato de *Tília cordata*, dentre outros avaliados em testes *in vitro*, foi eficiente na estimulação da germinação do mesmo fungo. Esse fato o torna importante, pois tanto esse como outros fungos possuem certa dormência em seus esporos, facilitando, assim, sua germinação.

6 CONCLUSÕES

Os extratos vegetais, nas concentrações utilizadas, não tiveram efeito sobre a germinação e a formação de apressórios de *P. pachyrhizi* em folhas de duas cultivares de soja.

O efeito dos extratos vegetais não pôde ser evidenciado, talvez, devido à baixa concentração utilizada, pelas condições de condução dos experimentos e, ainda, devido à adequação da metodologia de pulverização dos produtos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BONDE, M. R.; MELCHING, J. S.; BROMFIEL, K. R. Histology of the susceptible pathogen relationship between *Glycine max* and *Phakopsora pachyrhizi* the cause of soybean rust. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 66, n. 4, p. 290-294, 1976.

GRAAF, P. van der; JOSEPH, M. E.; CHARTIER-HOLLIS, J. M.; O'NEILL, T. M. Presentation stages in infection of clematis by *Phoma clematidina*. **Plant Pathology**, Honolulu, v. 51, p. 331-337, 2002.

HUNT, P. Cuticular penetration by germinating uredospores. **Transaction British Mycological Society**, London, v. 51, p. 103-112, 1983.

INGHAM, J. L. Disease resistance in higher plants: the concept of pre-infectious and post-infectious resistance. **Journal of Phytopathology**, Hamburg, v. 78, n. 3, p. 314-335, 1973.

KOCH, E.; EBRAHIM-NESBAT, F.; HOPPE, H. H. Light and electron microscopic studies on the development of soybean rust (*Phakopsora pachyrhizi* Syd.) in susceptible soybean leaves. **Journal of Phytopathology**, Hamburg, v. 106, n. 4, p. 302-320, 1983.

KROPP, B. R.; HOOPER, G. R.; HANSEN, T. R.; BINNS, M.; THOMSON, S. V. Initial events in the colonization of dryer's woad by *Puccinia thlaspeos*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 77, p. 843-849, 1999.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Eds.). **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 417-453.

RUBIALES, D.; NIKS, R. E. Low aplerium formation by rust fungi on *Hordeum chilense* lines. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 82, p. 1007-1012, 1992.

WYNN, W. K. Tropic and taxic responses of pathogens to plants. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 19, p. 237-255, 1981.

ZAMBENEDETTI, E. B. **Preservação de *Phakopsora pachyrhizi* Sydow & Sydow e aspectos epidemiológicos e ultra-estruturais da sua interação com**

a soja (*Glycine max* (L.) Merrill). 2005. 92 p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso intensivo e indiscriminado de defensivos agrícolas tem causado diversos problemas ao meio ambiente e ao homem. Visando minimizar tais efeitos negativos e propiciar a produção de alimentos mais saudáveis, com baixos custos aos produtores, este trabalho buscou identificar produtos alternativos para o controle da ferrugem-asiática da soja, causada pelo fungo *P. pachyrhizi*.

Os efeitos dos extratos vegetais não puderam ser evidenciados nos testes em casa de vegetação e com folhas destacadas. Tal fato, provavelmente, se deve à baixa concentração dos extratos vegetais pulverizados, além da metodologia de aplicação em casa de vegetação não ter sido eficiente.

No teste com folhas destacadas, os tratamentos foram pulverizados sobre as folhas e, na região de maior concentração dos urediniósporos, a concentração dos tratamentos foi baixa, prejudicando o teste e suas avaliações ultra-estruturais.

O estudo, no que diz respeito ao controle alternativo da ferrugem-asiática da soja, ainda é escasso, sendo necessário que mais testes sejam conduzidos, a fim de selecionar produtos de origem vegetal, potencialmente úteis e que novas metodologias de aplicação sejam estudadas para que o controle seja eficaz.

O comportamento do fungo *P. pachyrhizi* deve ser levado em consideração, pois ele pode apresentar-se de diferentes modos diante das oscilações climáticas e ainda pode estar relacionado com diferentes raças.

Portanto, o objetivo geral deste trabalho foi obter, por meio de produtos vegetais, uma nova tecnologia de controle alternativo de doenças de plantas. Além dos benefícios no controle fitossanitário, propiciar queda dos custos de

aquisição desses produtos, pois, as plantas utilizadas para a produção dos extratos são facilmente encontradas no Brasil.

ANEXOS

ANEXO A		Página
TABELA 1A	Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> sob efeito de extratos vegetais (Experimento I). UFLA, Lavras, MG, 2007.....	93
TABELA 2A	Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> sob efeito de extratos vegetais (Experimento II). UFLA, Lavras, MG, 2007.....	93
TABELA 3A	Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> sob efeito de extratos vegetais (Experimento III). UFLA, Lavras, MG, 2007.....	93
TABELA 4A	Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> sob efeito de extratos vegetais (Experimento VI). UFLA, Lavras, MG, 2007.....	94
TABELA 5A	Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> sob efeito de extratos vegetais (Experimento V). UFLA, Lavras, MG, 2007.....	94
TABELA 6A	Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de <i>Phakopsora pachyrhizi</i> sob efeito de extratos vegetais e óleos essenciais (Experimento VI). UFLA, Lavras, MG, 2007.....	94

ANEXO B		Página
TABELA 1B	Resumo da análise de variância sobre a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS), em folhas superiores, da ferrugem-asiática da soja em quatro cultivares, sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.....	95
TABELA 2B	Resumo da análise de variância sobre a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS), em folhas inferiores, da ferrugem-asiática da soja em quatro cultivares, sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.....	95
TABELA 3B	Resumo da análise de variância sobre a área abaixo da curva do progresso do número de lesões/cm ² (AACPNL), em folhas superiores, da ferrugem-asiática da soja em quatro cultivares, sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.....	96
TABELA 4B	Resumo da análise de variância sobre a área abaixo da curva do progresso do número de lesões/cm ² (AACPNL), em folhas inferiores, da ferrugem-asiática da soja em quatro cultivares, sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.....	96
TABELA 5B	Resumo da análise de variância sobre o número de soros urediniais/0,5cm ² , em folhas de duas cultivares de soja, inoculadas com <i>Phakopsora pachyrhizi</i> , sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.....	97
TABELA 6B	Médias de três avaliações da área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS), em folhas superiores, por tratamento, da ferrugem-asiática da soja. UFLA, Lavras, MG, 2007.....	97

TABELA 7B	Médias de três avaliações da área abaixo da curva de progresso do número de pústulas/cm ² (AACPNL) em folhas inferiores, por tratamento, da ferrugem-asiática da soja. UFLA, Lavras, MG, 2007.....	98
TABELA 8B	Médias de três avaliações da área abaixo da curva de progresso do número de pústulas/cm ² (AACPNL) em folhas superiores, por tratamento, da ferrugem-asiática da soja. UFLA, Lavras, MG, 2007.....	98
TABELA 9B	Médias de três avaliações da área abaixo da curva de progresso do número de pústulas/cm ² (AACPNL), em folhas inferiores, por tratamento, da ferrugem-asiática da soja. UFLA, Lavras, MG, 2007.....	99
TABELA 10B	Médias de seis avaliações do número de soros urediniais/0,5cm ² , em folhas de quatro cultivares de soja com diferentes níveis de resistência, inoculadas com <i>Phakopsora pachyrhizi</i> , sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.....	99

TABELA 1A. Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, sob efeito de extratos vegetais (Experimento I). UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrado médio
		Germinação (%)
Tratamento	11	0,047370*
Repetição	3	0,008256 ^{NS}
Erro	33	0,009361
CV (%)		19,00

^{NS} = Teste de F não significativo; * = Teste de F significativo a 5%.

TABELA 2A. Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, sob efeito de extratos vegetais (Experimento II). UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrado médio
		Germinação (%)
Tratamento	11	0,087426*
Repetição	3	0,009411 ^{NS}
Erro	33	0,006134
CV (%)		15,05

^{NS} = Teste de F não significativo; * = Teste de F significativo a 5%.

TABELA 3A. Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, sob efeito de extratos vegetais (Experimento III). UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrado médio
		Germinação (%)
Tratamento	11	0,020656*
Repetição	3	0,001830 ^{NS}
Erro	33	0,003882
CV (%)		11,93

^{NS} = Teste de F não significativo; * = Teste de F significativo a 5%.

TABELA 4A. Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, sob efeito de extratos vegetais (Experimento IV). UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrado médio
		Germinação (%)
Tratamento	16	0,311605*
Repetição	3	0,001207 ^{NS}
Erro	48	0,014567
CV (%)		19,00

^{NS} = Teste de F não significativo; * = Teste de F significativo a 5%.

TABELA 5A. Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, sob efeito de extratos vegetais (Experimento V). UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrado médio
		Germinação (%)
Tratamento	15	0,335923*
Repetição	3	0,008438 ^{NS}
Erro	45	0,026995
CV (%)		27,65

^{NS} = Teste de F não significativo; * = Teste de F significativo a 5%.

TABELA 6A. Resumo da análise de variância sobre a porcentagem de germinação de urediniósporos de *Phakopsora pachyrhizi*, sob efeito de extratos vegetais e óleos essenciais (Experimento VI). UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrado médio
		Germinação (%)
Tratamento	8	0,145448*
Repetição	3	0,010876 ^{NS}
Erro	24	0,010838
CV (%)		29,07

^{NS} = Teste de F não significativo; * = Teste de F significativo a 5%.

TABELA 1B. Resumo da análise de variância da área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS), em folhas superiores, da ferrugem-asiática da soja em quatro cultivares, sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrado médio
		AACPS
Cultivar	3	122307,75*
Extrato	5	6610,03 ^{NS}
Cultivar*Extrato	15	15046,63 ^{NS}
Repetição	2	5669,65 ^{NS}
Erro	46	14108,84
CV (%)		66,83

^{NS} = Teste de F não significativo; * = Teste de F significativo a 5%.

TABELA 2B. Resumo da análise de variância da área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS), em folhas inferiores, da ferrugem-asiática da soja em quatro cultivares, sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrado médio
		AACPS
Cultivar	3	74379,08*
Extrato	5	3886,59 ^{NS}
Cultivar*Extrato	15	12540,95 ^{NS}
Repetição	2	19727,56 ^{NS}
Erro	46	10276,74
CV (%)		61,35

^{NS} = Teste de F não significativo; * = Teste de F significativo a 5%.

TABELA 3B. Resumo da análise de variância sobre a área abaixo da curva do progresso do número de lesões (AACPNL), em folhas superiores, da ferrugem-asiática da soja em quatro cultivares, sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrado médio
		AACPS
Cultivar	3	140024,92*
Extrato	5	7505,74 ^{NS}
Cultivar*Extrato	15	22817,33 ^{NS}
Repetição	2	3768,61 ^{NS}
Erro	46	23346,20
CV (%)		55,04

^{NS} = Teste de F não significativo; * = Teste de F significativo a 5%.

TABELA 4B. Resumo da análise de variância sobre a área abaixo da curva do progresso do número de lesões (AACPNL), em folhas inferiores, da ferrugem-asiática da soja em quatro cultivares, sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrado médio
		AACPS
Cultivar	3	223589,89*
Extrato	5	8835,82 ^{NS}
Cultivar*Extrato	15	19720,08 ^{NS}
Repetição	2	5122,54 ^{NS}
Erro	46	25500,86
CV (%)		50,86

^{NS} = Teste de F não significativo; * = Teste de F significativo a 5%.

TABELA 5B. Resumo da análise de variância sobre o número de soros urediniais/0,5cm², em folhas de duas cultivares de soja, inoculadas com *Phakopsora pachyrhizi*, sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.

FV	GL	Quadrado médio
		AACPS
Cultivar	3	40702,32**
Extrato	5	3357,82**
Cultivar*Extrato	15	491,68 ^{NS}
Repetição	6	517,72 ^{NS}
Erro	137	419,98
CV (%)		34,96

^{NS} = Teste de F não significativo; * = Teste de F significativo a 5%.

TABELA 6B. Médias de três avaliações da área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS), em folhas superiores, por tratamento, da ferrugem-asiática da soja. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Cultivar	Tratamentos						Médias
	Ferru-lp 90	Ferru-lp 96	Ferru-lp 110	Ferru-lp 115	Água dest.	Fung.	
PI 230970	83,54*	136,74	207,20	106,64	198,57	132,30	142,51 A
PI 459025	69,54	60,67	65,10	102,09	132,88	196,94	104,53 A
MG/BR46	404,37	243,20	207,67	313,84	209,07	390,84	294,82 B
BRS134	287,7	183,87	168,00	135,57	148,64	90,65	169,06 A
Médias	211,31 a	156,11 a	159,49 a	164,52 a	172,28 a	202,67 a	-

* Médias com mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

TABELA 7B. Médias de três avaliações da área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPS), em folhas inferiores, por tratamento, da ferrugem-asiática da soja. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Cultivar	Tratamentos						Médias
	Ferru- lp 90	Ferru- lp 96	Ferru- lp 110	Ferru- lp 115	Água dest.	Fung.	
PI 230970	66,74*	171,50	248,04	162,17	147,38	245,24	394,52 A
PI 459025	98,82	34,88	88,20	64,40	60,44	104,42	151,66 B
MG/BR46	233,45	287,24	142,92	345,34	189,35	184,34	378,19 A
BRS134	221,20	252,7	166,84	171,74	180,67	89,14	331,52 A
Médias	334,83 a	354,66 a	308,29 a	309,75 a	298,37 a	277,95 a	-

* Médias com mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

TABELA 8B. Médias de três avaliações da área abaixo da curva de progresso do número de pústulas/cm² (AACPNL), em folhas superiores, por tratamento, da ferrugem-asiática da soja. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Cultivar	Tratamentos						Médias
	Ferru- lp 90	Ferru- lp 96	Ferru- lp 110	Ferru- lp 115	Água dest.	Fung.	
PI 230970	186,67	318,50	130,67	259,00	381,50	201,84	262,88 AB
PI 459025	131,84	152,84	115,50	163,34	226,34	285,84	179,27 B
MG/BR46	432,84	281,17	467,84	484,17	170,00	491,17	393,55 A
BRS134	394,34	292,84	277,67	236,84	261,34	185,50	274,75 AB
Médias	286,41 a	227,20 a	282,04 a	285,83 a	293,12 a	291,08 a	

* Médias com mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

TABELA 9B. Médias de três avaliações da área abaixo da curva de progresso do número de pústulas/cm² (AACPNL), em folhas inferiores, por tratamento, da ferrugem-asiática da soja. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Cultivar	Tratamentos						Médias
	Ferru-lp 90	Ferru-lp 96	Ferru-lp 110	Ferru-lp 115	Água dest.	Fung.	
PI 230970	329,00	434,00	494,67	336,00	413,00	360,50	394,52 A
PI 459025	176,17	89,84	137,67	130,67	136,50	239,17	151,66 B
MG/BR46	463,17	423,50	252,00	462,00	345,34	323,17	378,19 A
BRS134	371,00	471,84	348,84	310,34	298,87	189,00	331,52 A
Médias	334,83 a	354,66 a	308,29 a	309,75 a	298,37 a	277,95 a	

* Médias com mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade.

TABELA 10B. Médias de seis avaliações do número de soros urediniais/0,5cm², em folhas de quatro cultivares de soja com diferentes níveis de resistência, inoculadas com *Phakopsora pachyrhizi*, sob o efeito de extratos de plantas. UFLA, Lavras, MG, 2007.

Cultivar	Tratamentos						Médias
	Ferru-lp 90	Ferru-lp 96	Ferru-lp 110	Ferru-lp 115	Água dest.	Fung.	
PI 230970	51	43	38	47	62	31	45,30 B *
PI 459025	15	21	19	24	27	17	20,30 C
MG/BR46	91	78	86	93	91	61	83,00 A
BRS134	97	69	79	91	113	65	84,47 A
Médias	63,50 ab*	52,60 bc	55,42 bc	63,67 ab	73,03 a	41,39 c	-

* Médias com mesma letra, maiúscula na coluna e minúscula na linha, não diferem entre si, pelo teste Tukey, a 5 % de probabilidade.