

**PRODUTOS SINTÉTICOS E NATURAIS NA
PROTEÇÃO DE *Theobroma cacao* L. CONTRA
Crinipellis pernicioso (Stahel) Singer AGENTE
ETIOLÓGICO DA VASSOURA-DE-BRUXA**

IRIS LETTIERE DO SOCORRO SANTOS DA SILVA

2003

55911
MFN047879

IRIS LETTIERE DO SOCORRO SANTOS DA SILVA

PRODUTOS SINTÉTICOS E NATURAIS NA PROTEÇÃO DE
Theobroma cacao L. CONTRA *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer
AGENTE ETIOLÓGICO DA VASSOURA-DE-BRUXA.

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração em Fitopatologia, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. MÁRIO LÚCIO VILELA DE RESENDE

LAVRAS
MINAS GERAIS -BRASIL

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

Silva, Íris Lettiere do Socorro Santos da

Produtos sintéticos e naturais na proteção de *Theobroma cacao* L. contra
Crinipellis perniciosa (Stahel) Singer agente etiológico da vassoura-de-bruxa /
Íris Lettiere do Socorro Santos da Silva. -- Lavras : UFLA, 2003.

66 p. : il.

Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende..

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Indução de resistência. 2. Micronutriente. 3. Silicato de potássio. 4.
Fungicida. 5. Proteção. 6. Vassoura de bruxa. 7. Cacau. 8. Fungitoxidade. 9.
Extrato de planta. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.7495

IRIS LETTIERE DO SOCORRO SANTOS DA SILVA


**PRODUTOS SINTÉTICOS E NATURAIS NA PROTEÇÃO DE
Theobroma cacao L. CONTRA *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer
AGENTE ETIOLÓGICO DA VASSOURA-DE-BRUXA.**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de
Lavras como parte das exigências do curso de
Mestrado em Agronomia, área de concentração em
Fitopatologia, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 21 de fevereiro de 2003

Prof. Dr. Mário Sobral de Abreu UFLA

Prof. Dr. Denilson Ferreira de Oliveira UFLA


Prof. Dr. Mário Lúcio Vilela de Resende
UFLA
(Orientador)

LAVRAS
MINAS GERAIS -BRASIL

A Deus, sempre presente em todos os momentos,
pela força interior e incentivo para o término do trabalho.

Ao meu avó Luís Sarges (*in memoriam*).

Ofereço

Aos meus pais, Fernando e Socorro
À minha mãe por todo esforço e carinho
dedicados. Aos eternos amigos pelo
companheirismo e incentivo.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, que especialmente esteve comigo em todos os momentos de minha caminhada, concedendo-me força e perseverança em todas as circunstâncias.

Aos meus pais, pelo amor, incentivo e ensinamentos recebidos. Aos meus queridos irmãos, pelo carinho.

Agradeço a Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade de crescimento profissional e pessoal. Ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Mário Lúcio Vilela de Resende, pelo auxílio, orientação na condução desse trabalho e pela amizade.

Aos professores participantes da banca examinadora, Mário Sobral de Abreu e Denilson Ferreira de Oliveira, pela colaboração e contribuições.

Aos professores do curso, que muito contribuíram com seus ensinamentos.

À Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC), pelo fornecimento de sementes, sem as quais seria impossível conduzir os trabalhos.

À Faculdade de Ciências Agrárias do Pará (FCAP), pela formação como agrônoma e por ter sido nessa instituição o primeiro encontro com a fitopatologia.

Agradeço aos professores de fitopatologia (FCAP), em especial, à Prof. Adélia Benedita, que sempre incentivou-me e apoiou-me em minha trajetória profissional.

Às eternas amigas e irmãs, Help, Carmel e Elisana, pela amizade, companheirismo, apoio, carinho e constante presença, mesmo quando distante. Amo vocês!!

Ao carinho, apoio e incentivo de Norma e Pedro Albuquerque (em Belém) e a família Maciel, que substituíram a minha família nesse período (em Lavras).

Aos amigos da colônia paraense, em especial Artiaga e Ronan.

Aos amigos de curso, pela convivência saudável e em especial ao amigo Fernando Rocha.

À grande família do laboratório de fisiologia do parasitismo, aqueles que sempre me ajudaram nos bastidores, Juliana, Sarah, Galeno, Barone, Carla, Sônia, Fernandas, Cláudio e os colegas Beatriz e Fábio. Obrigada pelo carinho, companheirismo e amizade.

Aos amigos conquistados em Lavras, que foram responsáveis pelos momentos de distração e alegria, Luís Onofre, Robertinho, Gislaíne e o casal Gabriela e César Brasil.

Aos maravilhosos funcionários do DFP, em especial Eloísa, Aninha e Edinho.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para minha formação.

Muito Obrigada!

BIOGRAFIA DO AUTOR

ÍRIS LETTIERE DO SOCORRO SANTOS DA SILVA, *filha de Fernando Sérgio da Silva e Maria do Socorro Santos, nasceu aos quatro dias do mês de fevereiro de 1977, na cidade de Belém, estado do Pará.*

Em março de 1996, iniciou o Curso de Agronomia na Faculdade de Ciências Agrárias do Pará (FCAP), nos dias de hoje Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), diplomando-se como Agrônoma em outubro de 2000.

Em fevereiro de 2001 recebeu o título de Especialista em Agrometeorologia, na área de Riscos Agroclimáticos, pela Universidade Federal do Pará (UFPA).

Em março de 2001, iniciou o Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração Fitopatologia, na Universidade Federal de Lavras (UFLA), concluindo-o em fevereiro de 2003.

Em 21 de fevereiro de 2003, submeteu-se à defesa de dissertação para a obtenção do título de “Mestre”.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS.....	i
RESUMO.....	ii
ABSTRACT.....	iv
Capítulo 1: Produtos sintéticos e naturais na proteção de <i>Theobroma cacao</i> L. contra <i>Crinipellis perniciosa</i> (Stahel) Singer, agente etiológico da vassoura-de-bruxa	
.....	01
1 Introdução Geral.....	02
2 Referencial Teórico.....	04
2.1 A cultura do cacau	04
2.2. <i>Crinipellis perniciosa</i> , agente etiológico da vassoura-de-bruxa.....	04
2.3 <i>Verticillium dahliae</i> Kleb., agente causal da murcha vascular.....	05
2.4 Indução de resistência em plantas.....	05
2.5 Manejo da vassoura-de-bruxa	07
2.5.1 Fungicidas.....	07
2.5.2 Micronutrientes e silicato no manejo de doenças de plantas.....	07
2.5.3 Substâncias de origem vegetal.....	08
2.5.4 Extratos de plantas e derivados no controle de doenças.....	10
3 Referências Bibliográficas.....	12

CAPÍTULO 2: Efeito de micronutrientes e fungicidas combinados com indutor de resistência na proteção contra a vassoura-de-bruxa no cacauero.....16

1 Resumo.....	17
2 Abstract.....	18
3 Introdução.....	19
4 Material e Métodos.....	23
5 Resultados e Discussão.....	28
6 Conclusões.....	34
7 Referências Bibliográficas.....	35

CAPÍTULO 3: Atividade fungitóxica de extratos de plantas sobre *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer e *Verticillium dahliae* Kleb., agentes respectivos da vassoura-de-bruxa e da murcha-vascular em *Theobroma cacao*

L.....38

1 Resumo.....	39
2 Abstract.....	40
3 Introdução.....	41
4 Material e Métodos.....	43
5 Resultados e discussão.....	49
6 Conclusões.....	60
7 Referências Bibliográficas.....	61
Considerações Gerais.....	63
Anexos	64

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ASM	Acibenzolar-S-metil
AS	Ácido salicílico
INA	Ácido 2,6-di-cloroisonicotínico
SAR	Resistência sistêmica adquirida
ISR	Resistência sistêmica induzida
i.a.	Ingrediente ativo
mL	Mililitro
μL	Microlitro
ppm	parte por milhão
g	grama (peso)
°C	graus celsius
%	percentagem
CV	Coefficiente de variação
cv.	Cultivar
Mn	manganês
et al.	E outros;
ns	Não significativo
CI ₅₀	Concentração que inibe 50% da germinação
χ ²	Qui quadrado

RESUMO

SILVA, Íris Lettiere do Socorro Santos da. **Produtos sintéticos e naturais na proteção de *Theobroma cacao* L. contra *Crinipellis pernicios* (Stahel) Singer, agente etiológico da vassoura-de-bruxa.** 2003. 01–66 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG). *

Os objetivos desse trabalho consistiram em avaliar o uso de micronutrientes e fungicidas, isolados ou combinados como indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM), na proteção do cacauzeiro contra a vassoura-de-bruxa causada por *Crinipellis pernicios*. Além disso, avaliou-se a atividade fungitóxica de extratos de plantas contra *C. pernicios* e *Verticillium dahliae*, importantes patógenos do cacauzeiro. Nos teste *in vivo*, compostos sintéticos em combinações com ASM foram pulverizados 30 dias antes da inoculação de *C. pernicios* sobre as mudas de cacau, clone SIC-23. Foram utilizados o ASM, Supa-potássio[®] (silicato de potássio), Hortifós[®] PK (fosfito de potássio) e Growmaster Mn[®] (sulfato de manganês), testados nas dosagens de 0,2 mg i.a.; 1,5mL; 5 mL; 5mL/L de água, respectivamente, além do dobro e metade dessas dosagens, exceto para o ASM. Os tratamentos mais eficazes foram sulfato de manganês (10 mL/L) e a combinação desse com ASM, ambos reduzindo a doença em 51%. O silicato de potássio (3 mL/L) e sua combinação com ASM, conferiram efeito protetor de 50% e 47%, respectivamente. Nos testes com fungicidas isolados e combinados com ASM, foram utilizados os seguintes produtos nas respectivas dosagens: ASM 0,2 mg i.a. /L; Azoxystrobin 0,2 mg i.a./L; óxido cuproso 9 mg i.a./L; chlorotalonil 1,5 mg i. a./L; ASM + azoxystrobin 0,1 mg + 0,1 mg i. a./L; ASM + chlorotalonil 0,1 mg + 0,75 mg i.a./L; ASM + ox. cuproso 0,1 mg + 4,5 mg i.a./L. Os melhores tratamentos foram azoxystrobin, óxido cuproso e as combinações ASM + azoxystrobin, ASM + óxido cuproso, conferindo proteção de 36,6%; 33,3% e 33,3% e 30,0% respectivamente, em relação à testemunha inoculada. Para verificar o potencial de controle de *Crinipellis pernicios* e *Verticillium dahliae* extratos de 50 espécies vegetais foram testados contra os esporos desses fungos. Empregaram-se concentrações de 10%, 5%, 2,5%, 1,25% e 0,625% (massa de planta fresca em gramas/volume de solução aquosa de Tween 80 a 1% v/v). Os melhores resultados foram obtidos com *Glechoma hederaceae*, *Ilex brasiliensis*, *Svitramia pulchra*, *Cambessedesia spora* subsp. *ilicifolia*, cujas concentrações dos extratos que causam inibição de 50% da

* Comitê Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA (Orientador) e Mário Sobral de Abreu – UFLA (Co-orientador), Denilson Ferreira de Oliveira - UFLA.

germinação (CI₅₀) de *C. pernicioso* foram: 1,243%; 1,809%; 1,770%; 1,109% (g/mL), respectivamente. Com *V. dahliae* as CI₅₀ foram: 1,370 %; 1,138 %; 1,177 %; 1,648 % (g/mL), respectivamente.

ABSTRACT

SILVA, Iris Lettiere do Socorro Santos da. **Synthetic and natural products in the protection of *Theobroma cacao* L. against *Crinipellis pernicios* (Stahel) Singer, ethiologic agent of witches' broom.** 2003. 01-66 p. (Dissertation - Master in Agronomy/ Phytopathology). Universidade Federal de Lavras. *

The objectives of this work consisted in evaluating the use of micronutrients and fungicides, single or combined as resistance inducers acylbenzolar-S-methyl (ASM) in the protection of cacao seedlings against witches' broom caused by *Crinipellis pernicios*. In addition, the fungitoxic activity of plant extracts against *Crinipellis pernicios* and *Verticillium dahliae*, important pathogens of the cacao tree was evaluated. In *in vivo* tests, synthetic compounds in combinations with ASM were sprayed 30 days before inoculation of *C. pernicios* on cacao seedlings, clone SIC-23. ASM, Supa-potassio[®] (potassium silicate), Hortifos[®] PK (potassium phosphite) and Growmaster[®] MN (manganese sulfate), tested at the dosage of 0.2 mg i. a., 1.5 mL, 5 mL and 5 mL/ L of water, respectively, besides the double and half of those dosages, except for ASM were utilized. The most efficient treatments were manganese sulfate 10ml/L) and the combination of it with ASM, both reducing the disease by 51%. Potassium silicate (3ml/L) and its combination with ASM, conferred protective effect of 50% and 47%, respectively. In the tests with fungicides single and combined with ASM, the following products at the respective dosages: ASM 0.2 mg i.a /L, Azoxystrobin 0.2 mg i.a /L, copper oxide 9 mg i.a /L, chlorotalonil 1.5 mg i.a/L, ASM + Azoxyxtrobin 0.1 mg + 0.1 mg i.a /L, ASM + Chlorotalonil 0.1 mg + 0.75 mg i.a/L, ASM + copper oxide 0.1 mg + 4.5 mg i.a/L were utilized. Those treatments were applied via leaf spraying 30 days before inoculation on cacao seedlings SIC -23. The best treatments were azoxystrobin, copper oxide and the combinations ASM + azoxystrobin, ASM + copper oxide, giving protection of 36.6%, 33.3% and 33.3% and 30.0%, respectively, relative to the inoculated check. To verify the control potential of *Crinipellis pernicios* and *Verticillium dahliae*, extracts of 50 plant species were tested against the spores of that fungus. An *in vitro* trial was performed to evaluate the phytotoxic activity of the extracts of 50 plants. Concentrations of 10%, 5%, 2.5%, 1.25% and 0.625% (fresh mass of plants in grams/ volume of

* Guidance Committe: Mario Lúcio Vilela Resende - UFLA (Adviser) and Mário Sobral de Abreu - UFLA (Co-adviser), Denilson Ferreira de Oliveira - UFLA.

aqueous solution of 1% Tween 80 v/v). The best results were obtained on *Glechoma hederacea*, *Ilex brasiliensis*, *Svitramia pulchra* *Cambessedesia spora* subsp *ilicifolia* whose concentrations of the extracts causing 50% inhibition (IC_{50}) of *C. perniciosus* were: 1,243%; 1,809%; 1,770%; 1,109 % (g/mL), respectively. On *V.dahliae* as IC_{50} were: 1,370 %; 1,138 %; 1,177%; 1,648% (g/mL), respectively.

CAPÍTULO 1

**PRODUTOS SINTÉTICOS E NATURAIS NA PROTEÇÃO DE
Theobroma cacao L. CONTRA *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer
AGENTE ETIOLÓGICO DA VASSOURA-DE-BRUXA.**

1 INTRODUÇÃO GERAL

O fungo *Crinipellis perniciosa* (Stahel) Singer é o agente causal da vassoura-de-bruxa, doença considerada como fator limitante no cultivo do cacau (*Theobroma cacao* L.) nas regiões produtoras do Brasil. A vassoura-de-bruxa é responsável pela queda na produção nacional para 186.999 mil toneladas na safra 2001/2002 e ocasionou redução da área plantada, causando impacto econômico e social nas regiões cacaueiras. Contudo, o setor cacaueiro vem sofrendo recuperação pelo alto preço alcançado no mercado internacional no último ano, o que estimulou investimentos e novos plantios, aquecendo a economia desse segmento.

O cacau é cultivado em alguns estados da federação. A concentração da produção nacional está localizada na região sul da Bahia, que é responsável por 126.812 mil toneladas, seguida dos estados do Pará, Rondônia, Espírito Santo e Amazonas (Agrianual, 2003).

A vassoura-de-bruxa é a enfermidade mais devastadora do cacaueiro, atacando principalmente os tecidos meristemáticos em crescimento, provocando sintomas característicos do desequilíbrio hormonal na interação patógeno-hospedeiro (Bastos,1990). A doença provoca modificações na fisiologia e no metabolismo da planta, afetando a atividade de enzimas, trocas gasosas, divisão celular, teores de carboidratos, compostos fenólicos e de nutrientes (Aguilar,1999).

As medidas recomendadas para o controle da vassoura-de-bruxa, estão inseridas no manejo integrado da doença, que consiste em métodos de controle genético, cultural, químico e biológico. Métodos alternativos mais recentes incluem a resistência induzida e a busca de fungicidas naturais (a partir de substâncias alelopáticas presentes em plantas).

A resistência induzida (RI) consiste na ativação de mecanismos pós-infeccionais latentes pelo uso de agentes bióticos ou abióticos (Pascholati & Leite, 1995), como o [sulfo-metil-éster do ácido benzo (1, 2, 3) thiadiazole-7-carbotiólico] acibenzolar-S-metil (ASM), análogo do ácido salicílico, que possui amplo espectro de ação. Uknes et al. (1996) relatam que este indutor de resistência pode ser utilizado isoladamente ou em combinações com fungicidas, podendo, dessa forma, ter sua eficácia aumentada. Neste contexto também se enquadram os micronutrientes, que podem favorecer a ação do ASM, visto que muitos deles funcionam como co-fatores de várias enzimas envolvidas na síntese de compostos fenólicos ou terpenóides, que são comprovadamente importantes no sistema de defesa do cacau (Aguilar & Resende, 2000).

Assim como *C. pernicioso*, o fungo *Verticillium dahliae*, agente causal da murcha de verticillium, representa fator limitante na produção de cacau. Esta limitação ocorre principalmente em condições de deficiência hídrica, com períodos prolongados de seca, alternados com alta pluviosidade (Almeida et al., 1993).

No âmbito do manejo integrado de fitodoeças, várias alternativas têm sido estudadas, dentre elas o uso de extratos de plantas no controle de doenças: Bastos (1997; 2001), por exemplo, verificou inibição da germinação de basidiósporos de *C. pernicioso* promovida pelo contato com óleo de *Piper aduncum* e *Piper enckea*.

A utilização de métodos alternativos visa melhorar a eficiência do controle de doenças, reduzindo custos, danos ao homem e ao ambiente. Baseado nesses argumentos, os objetivos desse trabalho consistiram em avaliar a eficácia do uso de micronutrientes e fungicidas, isolados ou combinados com ASM, na proteção contra a vassoura-de-bruxa, além de avaliar a atividade fungitóxica *in vitro* de extratos de plantas contra *Crinipellis pernicioso* e *Verticillium dahliae*, importantes patógenos do cacau.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A cultura do cacau

O cacauzeiro *Theobroma cacao* L., espécie nativa da floresta tropical úmida, é originário das regiões tropicais da América Central e do Sul, tendo como centro de origem as nascentes dos rios Amazonas e Orinoco. Trata-se de uma árvore perene, típica de sub-bosque, pertencente à família Sterculiaceae.

Dentre as 22 espécies do gênero, apenas o cacauzeiro é explorado em larga escala comercial. As primeiras atividades extrativistas desta cultura eram restritas à região norte do Brasil, tendo sido introduzido no sul da Bahia em 1746, quando começou a formação da zona cacauzeira desse estado. Posteriormente, o cacau foi disseminado para África, constituindo os plantios de São Tomé, Príncipe, Nigéria e Costa do Marfim, que atualmente é o principal produtor mundial.

A amêndoa do cacau é o produto responsável pela movimentação da indústria do chocolate, importante na arrecadação de divisas para o setor agrícola brasileiro.

2.2 *Crinipellis pernicioso*, agente etiológico da vassoura-de-bruxa

A vassoura-de-bruxa, causada pelo fungo *Crinipellis pernicioso*, foi observada em 1885 no Suriname. No Brasil, o relato mais antigo da doença data de 1785, na Amazônia, onde foi descrita como “lagartão”. Até 1988 não havia sido detectada em cacauais distantes da região amazônica, mas em 1989 foi relatada na região cacauzeira baiana (CEPLAC, 1990).

C. pernicioso é um fungo da classe Basidiomycetes, ordem Agaricales e família Agaricaceae, apresentando duas fases fisiológicas e morfológicas distintas: uma fase parasítica, monócariótica, de crescimento intercelular, com ausência de grampos de conexão, encontrada em tecidos vivos e outra fase, a

saprofítica, dicariótica, com crescimento intracelular e presença de grampos de conexão, encontrada somente em tecidos mortos (Bastos, 1990).

C. pernicioso ataca principalmente os tecidos jovens, meristemáticos, como brotos, almofadas florais e frutos, provocando sintomas característicos de desequilíbrio hormonal que ocorre em interações patógeno-hospedeiro (Bastos, 1990).

2.3 *Verticillium dahliae* Kleb., agente causal da murcha vascular

O fungo *Verticillium dahliae* é um fungo mitospórico, pertencente à ordem Moniliales, família Moniliaceae. Apresenta microescleródios, conídios hialinos, isolados ou agrupados, formados em conidióforos hialinos, eretos, com ramificações verticiladas. Este fungo pode atacar centenas de culturas, incluindo hortaliças, ornamentais, florestais e frutíferas. Em cacaueteiro causa necrose vascular com concomitante amarelecimento e murcha das folhas, culminando com a morte da planta, por deficiência no suprimento de água para a parte área da mesma (Resende, 1994).

O controle químico pode ser utilizado de forma curativa. A doença ocorre em reboleiras, o que permite o controle local, visando evitar a disseminação do patógeno para plantas próximas àquelas infectadas. A aplicação de fungicidas de maneira generalizada torna-se economicamente inviável, devido à impossibilidade de controlar um fungo de solo em um cultivo perene (Resende, 1994).

2.4 Indução de resistência em plantas

Desde o início do século, o fenômeno da indução de resistência vem sendo estudado. Os primeiros pesquisadores a abordar o fenômeno foram Beauverie e Ray (1901), citados por Kessmann et al. (1994), que demonstraram

que estirpes fracas de *Botrytis cinerea* tornavam plantas de *Begonia* sp resistentes a estirpes virulentas do fungo.

Kessmann et al. (1994) afirmam que os genes induzidos durante a resistência sistêmica adquirida (SAR) variam de espécie para espécie, o que pode ser reflexo da seleção durante a evolução ou melhoramento genético ao qual certa espécie vegetal é submetida.

Substâncias sintéticas capazes de induzir resistência nas plantas incluem: ácido salicílico (AS) e seus análogos, ácido 2,6 dicloroisonicotínico (INA) e acibenzolar-S-metil (ASM). Este último é produzido comercialmente no Brasil.

Outros produtos têm surgido com a capacidade de ativar mecanismos de defesa nas plantas, como, por exemplo Messenger[®], produto que apresenta a proteína harpina em sua formulação; Elexa[®], produto derivado da quitina e que tem sido utilizado com sucesso na pós-colheita de frutos; Oryzemate[®], composto à base de leucina, utilizado com sucesso para proteção de arrozais; Oxycorn[®], utilizado como fungicida, atua também na ativação de rota de compostos fenólicos e promove o espessamento da parede celular; Phytogard[®], formulação a base fosfito que confere proteção a oídio em crucíferas.

Para um produto ser considerado um ativador de SAR, deve apresentar os seguintes critérios: a substância ativa e os produtos oriundos da sua metabolização não devem exibir atividade microbiana direta; o produto deve induzir resistência contra o mesmo espectro de patógenos que a SAR ativada biologicamente; o produto deve induzir a expressão dos mesmos genes marcadores, conforme a SAR ativada por patógenos (Kessmann et al., 1994).

Especialmente no caso do cacaueteiro, observa-se que o ASM, por ser ativador do sistema de defesa da planta, proporciona amplo espectro de ação sobre patógenos. Logo, pode ser utilizado como uma ferramenta adicional ao manejo de doenças em cacaueteiro, especialmente quando combinado a outros produtos.

2.5 Manejo da vassoura-de-bruxa

2.5.1 Fungicidas

Entre as medidas de controle químico adotadas para a lavoura cacaueteira estão a utilização de fungicidas protetores à base de óxido cuproso e os sistêmicos (tebuconazole). No entanto, o uso isolado de fungicidas é ineficiente para exercer controle efetivo sobre a vassoura-de-bruxa, tornando as pulverizações periódicas inviáveis economicamente.

2.5.2 Micronutrientes e silicato no manejo de doenças de plantas

A nutrição mineral de plantas é um fator ambiental passível de ser manipulado com relativa facilidade e utilizada como complemento ou método alternativo no controle de doenças (Marschner, 1995). Os elementos minerais participam de diversos eventos responsáveis pelos mecanismos de defesa, como co-fatores, ativadores, inibidores e moduladores de várias reações metabólicas (Zambolim & Ventura, 1993; Marschner, 1995).

Para exemplificar, podem-se citar os compostos tendo como base o manganês (importante nas reações de defesa das plantas), que vêm sendo utilizados por diversos pesquisadores no controle de doenças de plantas. Dentre eles, podem-se citar Nakayama et al. (1998), que verificaram redução da porcentagem de plantas infectadas por vassoura-de-bruxa em cacaueteiro, que foram pulverizados com manganês.

Zambolim & Ventura (1993) citam o fósforo como um nutriente mineral capaz de conferir resistência em plantas, seja pelo aumento de teor do nutriente nos tecidos da planta ou por acelerar a maturação dos tecidos jovens. No entanto, compostos tendo como base o fósforo têm sido testados sem eficiência no controle de doenças. Bastos & Lima (1998) verificaram que

somente em elevadas concentrações de P_2O_5 houve redução na porcentagem de frutos atacados por vassoura-de-bruxa.

As fontes comerciais de silício são os metassilicatos de sódio e de potássio, que são utilizados em aplicações foliares e hidroponia por possuírem alta solubilidade.

O silicato de potássio tem sido utilizado no manejo de doenças em vários patossistemas, reduzindo a incidência de vários fungos, como: *Pythium ultimum* em pepino (*Cucumis sativus*) (Chérif & Bélanger, 1992), *Pythium aphanidermatum* em pepino (Chérif et al., 1994), *Uncinula necator* em videiras (*Vitis* sp) (Bowen et al., 1992) e *Rhizoctonia solani* na rizicultura (Rodrigues, 2000). Nakayama et al. (1999) verificaram efeito inibidor do silício sobre a germinação dos basidiósporos de *Crinipellis perniciosa*.

A resistência induzida pelo silício apresenta similaridade com a resistência sistêmica adquirida (SAR). Em ambos os casos, o potencial de defesa aumenta, sendo maximizada após a infecção. Entretanto, a resistência induzida pelo silício é rapidamente perdida quando esse nutriente é removido do meio, enquanto a SAR é caracterizada por um efeito mais duradouro (Fawe et al., 1998).

Marscher (1995) relata que a resistência de plantas induzida por nutrientes minerais é atribuída a modificações na anatomia (células da epiderme mais grossas, lignificadas e/ ou silificadas) e modificações bioquímicas (síntese de compostos tóxicos).

2.5.3 Substâncias de origem vegetal

A flora brasileira possui grande diversidade de espécies, com muitas plantas nativas, cujas propriedades químicas e biológicas não foram investigadas. Segundo Ming (1996), até o momento, no Brasil ainda não se

conhece quase nada sobre a composição química de 99,6% das plantas de nossa flora, estimadas entre 40 mil e 55 mil espécies.

A literatura tem registrado a eficiência de extratos, obtidos de uma gama enorme de espécies botânicas, em promover a inibição do desenvolvimento de vários fitopatógenos de natureza fúngica (Wilson et al., 1997), o que deixa evidente o potencial das substâncias de origem vegetal para o controle de fungos fitopatogênicos.

Segundo Giesbrecht (1980), nas plantas existem diversas vias metabólicas que levam à formação de inúmeras substâncias, cuja distribuição pode ser restrita a algumas famílias, gêneros ou até mesmo a espécies. Vários desses metabólitos, até bem pouco tempo atrás, possuíam, na sua maioria, função desconhecida nos vegetais. Hoje, já se sabe que o conjunto de substâncias presentes nas plantas decorre, principalmente, de dois grupos de fatores: fatores genéticos (hereditários), portanto fixos, e fatores variáveis como a luz, temperatura, solo, água, etc. (Correa Jr. et al., 1994).

Essas substâncias possuem funções importantes nos vegetais, pois agem conferindo integridade às plantas contra ataques de bactérias, fungos, insetos ou herbívoros; na atração de polinizadores e dispersores de sementes e conferindo resistência por processos alelopáticos (Correa Jr. et al., 1994). Há metabólitos de origem vegetal que exercem toxicidade sobre o agente patogênico e outras servem de precursores para outras substâncias a serem utilizadas pelo sistema de defesa (Bennett & Wallsgrove, 1994; Simões et al., 2000).

As plantas apresentam variações qualitativas nas composições dos seus princípios ativos, decorrentes do estágio de desenvolvimento da planta. Entretanto, variações quantitativas existem em função da hora e época de coleta. Silva et al. (2000) constataram variações dos constituintes químicos de *Ocimum micranthum* Wild. em função da hora de coleta e de seu estágio de vida (folhas sem inflorescência, com inflorescência fresca e com inflorescência seca).

Apesar da grande variação dos compostos ativos nos vegetais, vários autores têm obtido sucesso na bioatividade desses compostos sobre fitopatógenos. Esta eficácia firma a utilização desses compostos como alternativa para o controle de doenças de plantas.

2.5.4 Extratos de plantas e derivados no controle de doenças


A busca por novas medidas de proteção de plantas tem conduzido a ensaios com substâncias antimicrobianas e alelopáticas, presentes em extratos de plantas com potencial para o controle de doenças.

Como exemplo, pode-se citar *Cymbopogon citratus*, planta medicinal conhecida vulgarmente como capim-limão. Seus extratos apresentaram efeito fungitóxico sobre *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Rhizoctonia solani*, inibindo totalmente os crescimentos miceliais (Valarini et al., 1995).

Laranjeira et al., (1995) verificaram que extratos de caroá (*Neoglaziovia variegata*) e sisal (*Agave sisalana*) foram capazes de reduzir o crescimento micelial e a produção de esporos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*.

Fiori et al. (1998) avaliaram o efeito dos extratos e óleos essenciais de diversas plantas medicinais, incluindo *Achillea millefolium*, *Ageratum conyzoides*, *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon citratus* sobre a germinação de esporos de *Didymella bryoniae*. Observaram inibição total de germinação destes esporos quando submetidos aos óleos essenciais de *Ageratum conyzoides*, *Eucalyptus citriodora* e *Cymbopogon citratus*.

Ito et al. (2000) observaram o efeito do extrato de carqueja (*Baccharis trimera*) nas concentrações sobre a porcentagem de inibição do crescimento micelial de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* e *Colletotrichum*



graminicola. A inibição de *R. solani* foi de 36% e de *C. graminicola*, 57%. Em *S. sclerotiorum*, o extrato de carqueja foi ineficiente.

Mota et al. (2001) testaram vários extratos e óleos de plantas medicinais *in vitro*, em diferentes concentrações, visando o controle de *Lasiodiplodia theobromae*. Isso lhes permitiu observar efeito inibidor do extrato e óleo de *Lippia sidoides* e *Piper aduncum* sobre o referido fungo.

Especialmente com *Crinipellis perniciosa*, observou-se inibição da germinação dos esporos pelo óleo de *Piper aduncum* (Bastos, 1997), que se mostrou eficaz no controle de *Colletotrichum musae* em condições de laboratório e em bananeiras (*Musa* sp.). De forma relativamente análoga, o óleo de *Piper enckea* inibiu tanto a germinação quanto o crescimento micelial de *C. perniciosa* (Bastos, 2001).

Como se nota, poucos trabalhos relatam o efeito *in vivo* de extratos de plantas sobre fitodoeças, necessitando-se de mais estudos nesse sentido.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL 2003. FNP Consultoria & Comércio. **Mercado & Perspectivas – Cacau**. 2003. p. 244-248.

AGUILAR, M. A. G. **Influência do manganês sobre aspectos bioquímicos e fisiológicos da tolerância de cacau (*Theobroma cacao* L.) à vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer)**. 1999. 199 p. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

AGUILAR, M. A. G.; RESENDE, M. L. V. Bases Bioquímicas e fisiológicas da resistência a doenças. In: Dias, L. A. S. (Ed.). **Melhoramento genético do cacau**. Viçosa: UFV, 2000. p. 325-359.

ALMEIDA, H. A.; ALMEIDA, L. C. C.; LIMA, A. A. Efeito da deficiência hídrica sobre o surgimento da murcha de *Verticillium* no cacau. In: **Anais CONGRESSO DE AGROMETEOROLOGIA**, 8., 1993, Santa Maria-RS. **Anais**. . . Santa Maria, 1993. p. 187.

BASTOS, C. N. **Epifitologia, hospedeiro e controle da vassoura-de-bruxa *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer**. Ilhéus, Bahia: Centro de Pesquisas do cacau, 1990. p. 21. (Boletim Técnico 168).

BASTOS, C. N.; LIMA, E. L. Efeito de dosagens crescentes de fósforo na perda de frutos de cacau causada pela vassoura-de-bruxa. In: **Informe de Pesquisa 1994-1996**. Belém-PA, 1998. p. 42-44.

BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncun* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 22, p. 441-443, 1997. Brasília, n.3, set.

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

BASTOS, C. N.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Fungitoxidade de óleo essencial de *Piper aduncun* contra *Colletotrichum musae* *in vitro* e *in vivo*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 26, p. 416-416, ago. 2001. Suplemento.

BENNETT, R.; WALLSGROVE, R. M. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist*, Cambridge, v. 127, p. 617- 633, 1994. Cambridge, n.4, Aug.

BOWE, P.; MENZIES, J. , EHRET, D.; SAMUELS, L.; GLASS, A. D. M. Soluble silicon sprays inhibit powdery mildew development on grape leaves. *Journal of the American Society for Horticulture Science*, Alexandria, v. 117, n. 6, p. 906-912, 1992. Nov.

CEPLAC. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. **Conheça a vassoura-de-bruxa**. Centro de Pesquisas do Cacau, Ilhéus, 1990. 17 p.

CHÉRIF, M & BÉLANGER, R. R. Use of potassium silicate amendments in recirculating nutrient solutions to suppress *Pythium ultimum* on long English cucumber. *Plant Disease*, 76:1008-1011. 1992. St Paul, n. 10, Oct.

CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R. R. Defense responses induce by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology*, 84: 236-242 . 1994. St. Paul, n. 3, Mar.

CORREA, JR.; LIN, C. M.; SCHEFFER, M. C. **Cultivo de plantas medicinais condimentares e aromáticas**. Jaboticabal: FUNEP, 1994.

FAWE, A.; ABOU, Z. M.; MENEZIES, J. G.; BÉLANGER, R. R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathology*. 88 (5): 396-401.1998. St. Paul, May.

FIORI, A C. G.; VIDA, J. B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Atividade fungitóxica de plantas medicinais na germinação de esporos de *Dydimella bryoniae*. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 23, p. 243-243, 1998. ago.

GIESBRECHT, A M. **Atividade microbiana de produtos naturais**. 1980. 64 p. Tese (Livre Docência) - Universidade de São Paulo, São Paulo.

ITO, C. S.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S.; BERNARDO, R.; COSTA, E. Atividade fungitóxica do extrato de bruto de *Baccharis trimera*. In: **III anuário do CCA**. Portaria 020/99- CCA. Anuário 1999/2000. ISS 1578-7586.

KESSMANN, H.; STAUB, T.; HOFFMANN, C.; MAETZKE, T.; HERZOG, J.; WARD, E.; UKNES, S.; RYALS, J. Induction of systemic acquired disease

resistance in plants by chemicals. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v. 32, p. 439-459, 1994.

LARANJEIRA, D.; NEVES, R. P.; OLIVEIRA, S. M. A.; M. MENEZES. Efeito de extratos de caroá (*Neoglaziovia variegata*) e sisal (*Agave sisalana*) sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 20, p. 289, ago. 1995. Suplemento.

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MING, L. C. Coleta de plantas medicinais. In: DI STASIL, C. (Ed.). **Plantas Medicinais: arte e ciência - um guia de estudos multidisciplinar**. São Paulo: Ed. Universidade Paulista. 1996. p. 69-86.

MOTA, J. C.; 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, ago. 2001. Suplemento.

NAKAYAMA, L. H. I.; ANDEBHRAN, T. , KORNDORFER, G. H. Silicon and *Theobroma cacao*. In: SILICON IN AGRICULTURE CONFERENCE, 1. , 1999, Fort Lauderdale. **Proceedings...** Fort Lauderdale, Florida: University of Florida, 1999. p. 18.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 417-53.

RODRIGUES, F. A. **Fertilização silicatada na severidade da queima-das-bainhas (*Rhizoctonia solani* Kuhn) do arroz**. 2000. 100 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

SIMÕES, C. M.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Rev. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2000. 821p.

SILVA, F. O.; SILVA, M. G. V.; MACHADO, M. I. L.; MATOS, F. J. DE A. Variação na composição química de óleo essencial das folhas de *Ocimum micrathum*. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 26. , 2000, Recife. **Resumos...** Recife: UFPE, 2000. p. 142-142.

RESENDE, M. L. V. Vascular wilt of cocoa (*Theobroma cacao* L.), caused by *Verticillium dahliae* Kleb. : studies on pathogenicity and resistance. 1994. (PhD. Thesis) – University of Bath, Bath, UK.

UKNES, S.; VERNOOIJ, B.; MORRIS, S.; CHANDLER, D.; STEINER, H.; SPECKER, N.; HUNT, M.; LAWTON, K.; RYALS, J. Reduction of risk for growers: methods for the development of disease-resistant crops. *New Phytologist*, Cambridge, v. 133, n. 1, p. 3-10, May 1996.

VALARINI, P. J.; FRIGHETTO, R. T. S.; SPADOTTO, C. A Potencial da erva medicinal (*Cymbopogon citratus*) no controle de fitopatógenos do feijoeiro e plantas daninhas em áreas irrigadas. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 20, p. 303-303, ago. 1995. Suplemento.

WILSON, C. L.; SOLAR, J. M.; GHAOUTH, A. E.; WINIEWSKI, M. E. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. *Plant Disease*, St. Paul, v. 81, n. 2, p. 204-210, Feb. 1997.

ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J. A. Resistência a doenças induzidas pela nutrição mineral das plantas. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, Passo Fundo, v. 1, p. 275-318, 1993. Passo Fundo.

CAPÍTULO 2

**EFEITO DE MICRONUTRIENTES E FUNGICIDAS
COMBINADOS COM INDUTOR DE RESISTÊNCIA NA PROTEÇÃO
CONTRA A VASSOURA-DE-BRUXA NO CACAUEIRO.**

1 RESUMO

SILVA, Íris Lettiere do Socorro Santos da. Efeito de micronutrientes e fungicidas combinados com o indutor de resistência ASM na proteção contra a vassoura-de-bruxa no cacauero. 2003. 16 - 37 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG). *

A fim de verificar o efeito silicato de potássio, micronutrientes, fungicidas, acibenzolar-S-metil (ASM) e a combinação desses na proteção de mudas de cacau contra vassoura-de-bruxa, os produtos foram pulverizados 30 dias antes da inoculação sobre as mudas do clone SIC-23. Foram utilizados o ASM, Supapotássio[®] (silicato de potássio) e os produtos a base de micronutrientes Hortifós[®] PK (fosfito de potássio) e Growmaster Mn[®] (sulfato de manganês), testados nas dosagens de 0,2 mg i.a.; 1,5 mL; 5 mL; 5mL/L de água, respectivamente, além do dobro e metade dessas dosagens, exceto para o ASM. Os tratamentos mais eficazes foram sulfato de manganês (10 mL/L) e a combinação desse com ASM, ambos reduzindo a doença em 51%; o silicato de potássio (3 mL/L) e o silicato de potássio misturado com ASM, conferindo efeito protetor de 50% e 47%, respectivamente. Nos testes com fungicidas isolados e combinados com ASM, foram utilizados os seguintes produtos nas respectivas dosagens: ASM 0,2 mg i.a./L; Azoxystrobin 0,2 mg i.a./L; óxido cuproso 9 mg i.a./L; chlorotalonil 1,5 mg i. a./L; ASM + azoxystrobin 0,1 mg + 0,1 mg i. a./L; ASM + chlorotalonil 0,1 mg + 0,75 mg i.a./L; ASM + ox. cuproso 0,1 mg + 4,5 mg i.a./L. Esses tratamentos foram aplicados via pulverização foliar 30 dias antes da inoculação de *C. pernicioso* em mudas de cacau SIC-23. Os melhores tratamentos foram azoxystrobin, óxido cuproso e as combinações ASM + azoxystrobin, ASM + óxido cuproso, conferindo proteção de 36,6%; 33,3% e 33,3% e 30,0%, respectivamente, em relação à testemunha inoculada.

* Comitê Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende -UFLA (Orientador) e Mário Sobral de Abreu – UFLA (Co-orientador), Denilson Ferreira de Oliveira - UFLA.

2 ABSTRACT

SILVA. Íris Lettiere do Socorro Santos da. **Effect of micronutrients and fungicides combined with the resistance inductor ASM in the protection against witches' broom on the cacao tree.** 2003. 16 - 37 p. (Dissertation – Master in Agronomy / Phytopathology) Universidade Federal de Lavras, Lavras MG.) *

In order to verify the effect of potassium silicate, micronutrients, fungicides and Acibenzolar-S-methyl (ASM) and the combination of these on the protection of cacao seedlings against witches' broom, the products were sprayed 30 days before inoculation of the seedlings of the clone SIC-23. ASM, Supa-potássio[®] (potassium silicate) and the products on the basis of micronutrients Hortifós[®] PK (potassium phosphite) and Growmaster[®] MN (manganese sulfate), tested at the dosage of 0.2 mg i.a, 1.5 mL, 5mL, 5 mL of water, respectively, in addition to the double and half of those dosages, except for ASM, were utilized. The most efficient treatments were manganese sulfate (10mL/L) and the combination of this with ASM, both reducing incidence of disease by 51% and potassium silicate (3mL/L) and potassium silicate mixed with ASM, conferring the protective effect of 50% and 47%, respectively. In the tests with single fungicides and combined with ASM, the following products at the respective dosages were utilized: ASM 0.2 mg i.a/L, Azoxystrobin 0.2mg i.a/L, copper oxide 9 mg i.a/L, chlorotalonil 0.1 mg + 0.75 mg i.a/L, ASM + copper oxide 0.1 mg + 4.5 mg i.a/L. These treatments were applied via leaf spraying 30 days before inoculation of *C. perniciosa* on cacao seedlings, SIC - 23. The best treatments were azoxystrobin, copper oxide and the combinations ASM + azoxystrobin and ASM + copper oxide, conferring protection of 36.6%, 33.3% and 33.3% and 30.0%, respectively, relative to the inoculated check.

* Guidance Committe: Mario Lúcio Vilela Resende - UFLA (Adviser) and Mário Sobral de Abreu - UFLA (Co-adviser), Denilson Ferreira de Oliveira - UFLA.


3 INTRODUÇÃO

Várias estratégias de controle da vassoura-de-bruxa do cacauero têm sido empreendidas nas diversas regiões da cacauicultura brasileira. Tais estratégias vão desde o plantio de clones com níveis diferenciados de resistência até o uso de fungicidas protetores e/ou sistêmicos, passando pela remoção de tecidos infectados e aplicação de fungo antagonista, em um sistema integrado de manejo. Entretanto, até o momento não se conseguiu implementar uma forma de manter a doença em níveis aceitáveis de convivência e, como consequência direta, a produção nacional vem sofrendo redução nos últimos anos.

O Brasil chegou a liderar a produção mundial de amêndoas, no entanto a redução na produção em decorrência do avanço da doença nas principais regiões produtoras reduziu o país a quinto colocado no mercado internacional, com uma produção de 186.999 mil toneladas na safra 2001/2002 (Agrianual, 2003).

Diante do quadro atual da cultura no Brasil, novas alternativas têm sido estudadas para utilização no manejo integrado. Uma possibilidade pode advir do uso da resistência induzida (RI), cujo mecanismo de ação, inespecífico, foi desenvolvido durante a evolução das plantas, como resposta ao ataque de diversos inimigos naturais. A ação de amplo espectro de genes de defesa devidamente ativados poderia então ser somada com a ação de genes de resistência para proporcionar em plantas cultivadas uma resistência mais estável e durável frente a diferentes raças de determinado patógeno, ou mesmo, frente a diferentes patógenos.

A RI ativa mecanismos de defesa representados por barreiras bioquímicas e/ou estruturais, aumentando a resistência geral da planta (Uknes et al., 1996). A proteção obtida contra determinado patógeno pode ser local ou sistêmica, dependendo do intervalo de tempo entre o tratamento inicial (indutor) e a inoculação do patógeno (desafiador) (Pascholati & Leite, 1995). A sua



duração pode ser de poucos dias a algumas semanas, ou mesmo durar todo o ciclo de vida da planta (Pascholati & Leite, 1995), passando assim a constituir um mecanismo de defesa constitutivo da mesma.


O indutor de resistência mais conhecido liberado para uso comercial é o análogo do ácido salicílico, acibenzolar-S-metil (ASM). Acredita-se ser esse o primeiro representante de uma nova geração de protetores de plantas eficientes na indução de resistência (Lyon & Newton, 1997). Outros indutores comerciais desenvolvidos recentemente incluem: Messenger[®], Oryzemat[®], Elexa[®], Oxycom[®] e Phytogard[®].

O ASM foi testado com eficácia contra várias doenças no cacau, como: redução na incidência de vassoura-de-bruxa em 60,2%, quando pulverizado o indutor de resistência 15 dias antes da inoculação de *Crinipellis pernicioso*, em mudas cacau da cv. Catongo (Resende *et al.*, 2000). Na proteção de mudas de cacau cv. Theobahia, quando o indutor foi pulverizado 15 dias antes da inoculação de *Verticillium dahliae*, reduzindo o índice de doença em 55,4% (Cavalcanti & Resende, 2000).

A eficiência de um produto fitossanitário pode ser melhorada, conhecendo-se a forma como ele age na planta e no organismo alvo, sem desprezar a dinâmica dos processos envolvidos nas relações patógeno-hospedeiro e ambiente.

Segundo Aguilar & Resende (2000), o desempenho de uma substância indutora de resistência certamente pode ser melhorada ou mesmo estabilizada, quando associada a outros indutores, ou mesmo a micronutrientes que podem funcionar como cofatores de várias enzimas envolvidas na síntese de compostos fenólicos ou terpenóides, comprovadamente importantes substâncias de defesa do cacau. Uknes *et al.* (1996) afirmam que o indutor de resistência pode ser utilizado isoladamente ou empregado em combinações com fungicidas.

Neste trabalho objetivou-se:

- 
- verificar a eficiência de diferentes fungicidas, protetores e sistêmicos e o uso destes fungicidas combinados com o indutor de resistência ASM no controle da vassoura-de-bruxa em cacauero;
 - explorar a possibilidade do uso de produtos à base de micronutrientes e silicato de potássio, utilizados isoladamente ou combinados com ASM na proteção contra a vassoura-de-bruxa em mudas de cacau.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material vegetal e condições de crescimento

Foram utilizadas mudas de *Theobroma cacao*, clone SIC-23 (padrão em suscetibilidade), cujas sementes foram provenientes do Centro de Pesquisas do Cacau da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira, CEPLAC, Itabuna, BA. As mudas foram cultivadas em sacos plásticos contendo mistura de terra, areia e esterco bovino na proporção de 2:1:1, respectivamente. Os experimentos foram conduzidos em casa-de-vegetação do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (DFP-UFLA), mantida sob temperatura controlada em 25° e 27°C e umidade relativa do ar em torno de 85%, controladas por de um sistema automatizado de nebulização.

4.2 Produção de inóculo e inoculação das mudas

O inóculo foi obtido a partir de vassouras infectadas (ramos secos) provenientes de várias localidades do Sul da Bahia. Essas vassouras foram mantidas em vassoureira sob regime de nebulização periódica, para induzir a formação de basidiocarpos. Os basidiocarpos eram provenientes de vassouras secas ou produzidos em substrato artificial a base de farelo-vermiculita, conforme modificado por Niella et al. (1999) e utilizados para a obtenção de basidiósporos em overnight depositados em glicerol 16%, conforme Frias et al. (1995) e a suspensão de basidiósporos em glicerol 16% foram armazenados em “deep freezer” a -80 °C conforme Resende et al. (1998), para uso posterior.

A percentagem de germinação dos basidiósporos foi quantificada antes da armazenagem e antes da inoculação, em lâminas escavadas com três cavidades. As lâminas contendo a suspensão de basidiósporos foram mantidas

em câmara úmida por 24 horas. Após esse período, adicionou-se 30µL do corante azul de lactoglicerol em cada cavidade e, posteriormente, determinou-se a percentagem de esporos germinados, sendo amostrados ao acaso 200 basidiósporos/cavidade (contados em todas as extremidades da no formato de cruz).

Todas as inoculações foram procedidas ao final da tarde, com a deposição de uma gota da suspensão de basidiósporos na concentração de 1×10^5 basidiósporos viáveis/mL no meristema apical de cada planta. Vinte e quatro horas antes e após o processo de inoculação foram realizadas câmaras úmidas mantidas em ambiente com umidade relativa do ar saturada, para propiciar condições a penetração fúngica, evitando o ressecamento no ápice da muda.

4.3 Efeito de micronutrientes foliares isolados e combinados com acibenzolar-S-metil na indução de resistência em mudas cacau.

As mudas de cacau clone SIC-23 com 60 dias de idade, foram tratadas trinta dias antes da inoculação com ASM (0, 2 mg i.a. / L) e os micronutrientes isolados e em combinações com ASM. Os produtos utilizados no ensaio foram Bion[®] (Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo, SP), Supa-potássio[®] (20% SiO₂) e Hortifós[®] PK (20% P₂O₅ +27% K₂O), (Agrichem do Brasil Ltda, Ribeirão Preto, SP) e Growmaster Mn[®] (14% MnSO₄), (Intercuf Indústria e Comércio Ltda) os produtos foram aplicados sobre as mudas nas dosagens detalhadas na Tabela 1. Duzentos e cinquenta mililitros de cada produto foram aplicados por meio de pulverização foliar em todas as repetições. Quando os produtos foram testados em combinações com ASM, todas as dosagens foram reduzidas à metade (Tabela 1).

Decorridos 60 dias após as inoculações, foram realizadas as avaliações de incidência da doença.

TABELA 1- Dosagens dos produtos à base de micronutrientes e silicato utilizados isoladamente ou combinados com ASM na proteção contra a vassoura-de-bruxa

Nome Comercial	Tratamentos	Dosagem (mg i.a. ou mL/L)
1 Growmaster Mn [®] e Bion [®]	Sulfato de manganês e ASM	1,25 mL e 0,1 mg i.a.
2 Growmaster Mn [®] e Bion [®]	Sulfato de manganês e ASM	2,5 mL e 0,1 mg i.a.
3 Growmaster Mn [®] e Bion [®]	Sulfato de manganês e ASM	5,0 mL e 0,1 mg i.a.
1 Growmaster Mn [®]	Sulfato de manganês	2,5 mL
2 Growmaster Mn [®]	Sulfato de manganês	5 mL
3 Growmaster Mn [®]	Sulfato de manganês	10 mL
1 Hortifós [®] PK	Fosfito de potássio	2,5 mL
2 Hortifós [®] PK	Fosfito de potássio	5 mL
3 Hortifós [®] PK	Fosfito de potássio	10 mL
1 Hortifós [®] PK e Bion [®]	Fosfito de potássio e ASM	1,25 mL e 0,1 mg i.a.
2 Hortifós [®] PK e Bion [®]	Fosfito de potássio e ASM	2,5 mL e 0,1 mg i.a.
3 Hortifós [®] PK e Bion [®]	Fosfito de potássio e ASM	5,0 mL e 0,1 mg i.a.
1 Supa-potássio [®]	Silicato de potássio	0,75 mL
2 Supa-potássio [®]	Silicato de potássio	1,5 mL
3 Supa-potássio [®]	Silicato de potássio	3,0 mL
1 Supa-potássio [®] e Bion [®]	Silicato de potássio e ASM	0,35 mL e 0,1 mg i.a.
2 Supa-potássio [®] e Bion [®]	Silicato de potássio e ASM	0,75 mL e 0,1 mg i.a.
3 Supa-potássio [®] e Bion [®]	Silicato de potássio e ASM	1,5 mL e 0,1 mg i.a.
Bion [®]	acibenzolar-S-metil (ASM)	0,2 mg i.a./L

4.3.1 Delineamento experimental e análise estatística

Para o experimento com micronutrientes em casa-de-vegetação foi adotado o delineamento experimental de blocos casualizados, constituído de quatro produtos, três combinações destes e três dosagens dos produtos testados (metade da dosagem recomendada comercialmente, dosagem recomendada comercialmente e o dobro da dosagem recomendada), além da T_{Cp} (Testemunha positiva, inoculada somente). Foram utilizadas quatro repetições com 10 plantas cada/tratamento, em que foi avaliada a porcentagem de incidência de doença. Os resultados experimentais foram submetidos à análise de variância e teste de médias utilizando o software estatístico Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas 8.0 (SAEG), da Universidade Federal de Viçosa (Ribeiro Jr., 1999). A comparação das médias foi realizada com base no teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

4.4 Efeito do uso de fungicidas puros e misturados com ASM na proteção contra vassoura de bruxa em mudas de cacau

O experimento foi instalado em casa de vegetação do DFP-UFLA, onde foram pulverizados 250 mL do indutor de resistência (ASM) e dos fungicidas, com suas respectivas dosagens e combinações (Tabela 2), sobre mudas de cacauero SIC-23 com 60 dias de idade. Os tratamentos foram aplicados via pulverização foliar 30 dias antes da inoculação.

A avaliação foi realizada aos 60 dias após as inoculações, verificando-se a incidência de doença em cada parcela.

TABELA 2 Produtos químicos utilizados na proteção contra *Crinipellis pernicioso* em mudas de cacau SIC-23.

Nome técnico	Nome comercial	Dosagem i.a.
Acibenzolar - S- metil	Bion® 50 WG	0,2 mg/L
Azoxystrobin	Amistar® 500 WG	0,2mg/L
Óxido cuproso	Cobre Sandoz® BR	9 mg/L
Chlorotalonil	Bravonil Ultrex®	1,5 mg/L
ASM + Azoxystrobin		0,1 mg/mL+0,1mg/L
ASM + Óxido cuproso		0,1mg/mL+0,75mg/L
ASM + Chlorotalonil		0,1mg/mL+4,5mg/L

4.4.1 Delineamento experimental e análise estatística

O delineamento experimental utilizado foi o de blocos inteiramente casualizados com nove tratamentos, sendo quatro produtos e três combinações do ASM com os fungicidas e duas testemunhas, absoluta e inoculada, com quatro repetições de 10 plantas cada. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e teste de média utilizando o software estatístico SAEG 8.0. A comparação das médias foi realizada com base no teste de agrupamento de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Efeito de dosagens de micronutrientes foliares isolados e combinados com acibenzolar-S-metil na indução de resistência em mudas cacau

Sessenta dias após a inoculação, os tratamentos diferiram estatisticamente nas dosagens e combinações com o indutor de resistência (ASM) em mudas de cacau (Figura 1). O micronutriente que apresentou maior efeito protetor contra vassoura-de-bruxa foi o sulfato de manganês na concentração (10 mL/L) e sulfato de manganês combinado com o indutor de resistência ASM, nas concentrações de 5,0 mL e 0,1 mg i.a./L, respectivamente. Ambos tratamentos levaram a uma redução de 51,4% no índice de doença em relação à testemunha inoculada, a qual alcançou 70% de incidência de vassouras.

Dentre os tratamentos que conduziram a um resultado protetor semelhante, não diferindo daqueles citados com sulfato de manganês, tem-se o silicato de potássio na dosagem de 3,0 mL/L e silicato de potássio (1,5 mL/L) combinado com ASM (0,1 mg i.a./L), apresentando reduções na incidência de doença de 51,1% e 47,0%, respectivamente.

Os tratamentos com efeitos protetores intermediários, com suas respectivas reduções na incidência da doença foram os seguintes: silicato de potássio isoladamente na dosagem de 0,75 mL e 1,5 mL/L apresentando respectivamente 42,8% e 41,4% de redução; ASM (0,2 mg i.a./L), sulfato de manganês (2,5 mL/L) aplicado isoladamente e sulfato de manganês combinado com ASM (2,5 mL e 0,1 mg i. a./L) apresentaram redução de 40%; sulfato de manganês (5,0 mL/L) e fosfito de potássio combinado com ASM (5 mL e 0,1 mg i. a./L) com redução de 38,5%; seguidos pelos tratamentos com silicato de potássio misturado com ASM nas dosagens (0,75 mL e 0,1 mg i. a./L) e (0,35mL e 0,1 mg i. a./L), com redução no índice de doença de 37,1% e 34,2%, respectivamente.

Os tratamentos que apresentaram menor efeito protetor foram fosfito de potássio e ASM nas dosagens (1,25 mL e 0,1 mg i.a./L) e (2,5 mL e 0,1 mg i. a./L) com redução da doença de 32,8% e 31,4%, respectivamente; sulfato de manganês com ASM (1,25 mL e 0,1 mg i. a.) com redução de 30% na doença; fosfito de potássio nas dosagens (10 mL e 2,5 mL/L) com 27,1% e 20% de redução na doença, respectivamente.

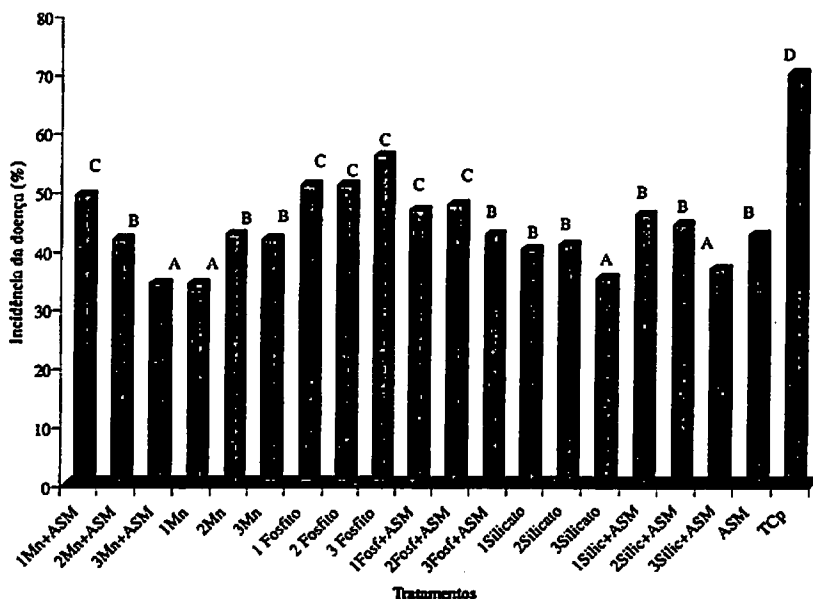


FIGURA 1. Incidência de doença (%) em mudas de cacau *Theobroma cacao* L. clone SIC-23, 60 dias após a inoculação em função da aplicação de micronutrientes. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott e Knott ($P < 0,05$).

Sugere-se que a eficácia de sulfato de manganês e silicato de potássio pode ser potencializada pela combinação com o ASM, reduzindo-se as dosagens desses pela metade, conferindo-se ainda semelhante proteção à doença.

O efeito protetor do ASM associado com o silicato de potássio e sulfato de manganês foi maior, quando comparado com o do ASM isoladamente. Contudo, os respectivos efeitos protetores desses compostos inorgânicos, isolados ou combinados, não diferiram significativamente entre si.

Dados similares foram obtidos por Nakayama et al. (1998) e Aguilar (1999), em relação à eficiência do micronutriente Mn na proteção contra vassoura-de-bruxa, em pulverização foliar como em solução nutritiva, conferindo resistência parcial contra a vassoura-de-bruxa.

Existem vários relatos de sucesso no controle de doenças em diversas culturas, pelo silicato de potássio. Chérif & Bélanger (1992) constataram supressão de *Pythium ultimum* em pepineiros (*Cucumis sativus*) reduzindo a podridão de raízes. Menzies et al. (1992) verificaram que a pulverização foliar com silicato de potássio aumentou significativamente o período de latência e reduziu o número de colônias de *Sphaerotheca fuliginea* em folhas de abóbora (*Curcubita pepo*).

Segundo Bowen et al. (1992), a supressão da doença pelo silicato pode ser explicada pela translocação e deposição do silício na parede celular, impedindo a penetração do fungo na planta (efeito direto). Entretanto, vários autores reforçam que o silício estimula os mecanismos naturais de defesa da planta, como a produção de compostos fenólicos, quitinases, peroxidases e acúmulo de lignina (Chérif et al., 1994; Fawe et al., 1998; Epstein, 1999).

Estudos realizados com diferentes culturas têm mostrado o efeito de micronutrientes, especialmente do fósforo, no aumento de resistência a doenças. Entretanto, no cacaueteiro essa redução só é verificada quando esse micronutriente é utilizado em grandes dosagens (Bastos & Lima, 1998). No presente trabalho, o fosfito de potássio teve um pequeno efeito protetor, que foi melhorado quando associado ao ASM.

Segundo Aguilár & Resende (2000), o desempenho de um elicitador certamente pode ser melhorado ou mesmo estabilizado, quando associado a outros indutores de resistência, ou mesmo a micronutrientes que podem funcionar como cofatores de várias enzimas envolvidas na síntese de compostos fenólicos ou terpenóides, substâncias importantes no sistema de defesa do cacauero.

5.2 Efeito do uso de fungicidas puros e misturados com ASM na proteção à vassoura-de-bruxa em mudas de cacau

Na avaliação aos 60 dias após a inoculação, os fungicidas azoxystrobin, óxido cuproso e a combinação desses com o ASM não diferiram estatisticamente. Entretanto, propiciaram percentagens de controle em relação a testemunha correspondentes a 36,6%, 33,3%, 33,33% e 30,0%, respectivamente. Na testemunha inoculada, a incidência da doença foi de 75%.

Os tratamentos que apresentaram menor proteção à doença foram ASM, cuja redução correspondeu a 26,6%, ASM + chlorotalonil (23,3%) e chlorotalonil com 20% em relação à testemunha (Figura 2).

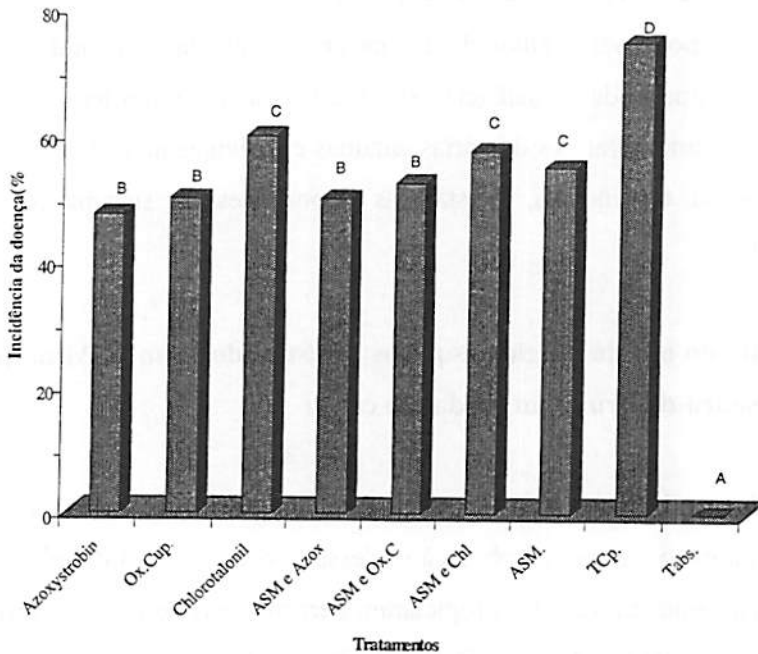


FIGURA 2. Incidência de doença (%) em mudas de cacau *Theobroma cacao* L. clone SIC-23, 60 dias após a inoculação, em função do uso de fungicidas isolados ou combinados com o indutor de resistência ASM. Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Scott e Knott ($P < 0,05$).

Esses resultados são, em parte, semelhantes aos obtidos por Nojosa (1999). Este autor observou redução no índice de doença de 35,27% em mudas de cacau cv. Catongo tratadas com óxido cuproso em comparação com outros produtos sintéticos no controle de vassouras em mudas de cacau mantidas em casa-de-vegetação. Vários pesquisadores da CEPLAC, em condições de campo, constataram a eficiência do óxido cuproso, que é recomendado pelo Ministério da Agricultura na proteção do cacauero.

Os resultados aqui obtidos corroboram com aqueles de Perez (2002), que aplicou vários fungicidas isolados e combinados com ASM, observando a eficácia dos fungicidas e respectivas reduções no índice de vassoura-de-bruxa: azoxystrobin 74%, óxido cuproso 70,3% e azoxystrobin combinado com ASM 70,3%, em mudas de cacau, clone SIC-23 mantidas em ambiente protegido. Vale ressaltar que a aplicação dos fungicidas isolados ou combinados, teve ranqueamento similar, quando aplicados aos 15 dias (Perez, 2002) ou 30 dias antes da inoculação (presente trabalho). Entretanto, no presente trabalho, as porcentagens de proteções conferidas foram diferentes: azoxystrobin (36,6%), óxido cuproso (33,3%), azoxystrobin + ASM (33,3%), óxido cuproso + ASM (30%), além do ASM (26,6%), todas menores que a obtida por Perez (2002), que verificou proteção de 33,5% em mudas de cacau pulverizadas com ASM.

Provavelmente, os menores índices de proteção encontrados no presente trabalho podem estar relacionado ao intervalo de aplicação dos tratamentos, além da lixiviação dos mesmos pela freqüente irrigação das mudas mantidas em casa-de-vegetação. Em relação ao ASM, a proteção conferida pelo indutor é dependente do material vegetal utilizado no experimento.

Em trabalhos anteriores, maiores proteções foram conferidas pelo ASM quando pulverizado 15 dias antes da inoculação, como: 60,2% de redução no índice de mudas da cv. Catongo infectadas por *C. perniciosa* (Resende et al., 2000) e proteção de 55,4%, em mudas da cv. Theobahia contra *Verticillium dahliae* (Resende et al., 2002).

6 CONCLUSÕES

1. Os tratamentos que apresentaram maior efeito protetor em mudas de cacau inoculadas com *Crinipellis perniciosa* foram: sulfato de manganês na dosagem (10mL/L), silicato de potássio (3,0 mL/L), sulfato de Mn + ASM (5,0 mL + 0,1 mg i.a./L, respectivamente), além de silicato de potássio + ASM (1,5 mL + 0,1 mg i.a./L, respectivamente).
2. Os fungicidas que apresentaram maior efeito protetor contra *C. perniciosa* em mudas de cacau SIC-23 foram: azoxystrobin, óxido cuproso e a combinação desses com o indutor de resistência ASM.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL 2003. FNP Consultoria & Comércio. Mercado & Perspectivas – Cacau. 2003. p. 244-248.

AGUILAR, M. A. G. Influência do manganês sobre aspectos bioquímicos e fisiológicos da tolerância de cacau (*Theobroma cacao* L.) à vassoura-de-bruxa (*Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer. 1999. 199 p. Tese (Doutorado em Fisiologia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

AGUILAR, M. A. G.; RESENDE, M. L. V. Bases Bioquímicas e fisiológicas da resistência a doenças. In: Dias, L. A. S. (Ed.). Melhoramento genético do cacauero. Viçosa: UFV, 2000. p. 325-359.

CAVALCANTI, L. S.; RESENDE, M. L. V. Efeito da época de aplicação e dosagem de benzotiadiazole na indução de resistência a *Verticillium dahliae* em plântulas de cacauero. *Fitopatologia Brasileira*, Brasília, v. 25, p. 458, 2000. Suplemento.

BASTOS, C. N.; LIMA, E. L. Efeito de dosagens crescentes de fósforo na perda de frutos de cacau causada pela vassoura-de-bruxa. . In: *Informe de Pesquisa 1994-1996*. Belém-PA, 1998. p. 42-44

BOWE, P. . MENZIES, J. , EHRET, D. , SAMUELS, L. , GLASS, A. D. M. Soluble silicon sprays inhibit powdery mildew development on grape leaves. *Journal of the American Society for Horticulture Science*, Alexandria, v. 117, n. 6, p. 906-912, 1992. Nov.

CHÉRIF, M.; BÉLANGER, R. R. Use of potassium silicate amendments in recirculating nutrient solutions to suppress *Pythium ultimum* on long English cucumber. *Plant Disease*. 76: 1008-1011.1992. St Paul, n. 10, Oct.

CHÉRIF, M.; ASSELIN, A.; BÉLANGER, R. R. Defense responses induce by soluble silicon in cucumber roots infected by *Pythium* spp. *Phytopathology*. 88: 236-242. 1994. St. Paul, n. 3, Mar.

EPSTEIN, E. Silicon in plants, facts vs. concepts. In: SILICON AGRICULTURE CONFERENCE, 1. , 1999, Fort Lauderdale. *Proceedings...* Fort Lauderdale, Florida: University of Florida, 1999. p. 3.

FAWE, A.; ABOU, Z. M.; MENEZIES, J. G.; BÉLANGER, R. R. Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. **Phytopathology**. 88 (5): 396-401. 1998. St. Paul, May.

FRIAS, G. A.; PURDY, L. H.; SCHMIDT, R. A. An inoculation method for evaluate resistance of cocoa to *Crinipellis pernicioso*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 8, p. 787-791, Aug. 1995.

LYON, G. D.; NEWTON, A. C. Do resistance elicitors offer new opportunities in integrated disease control strategies? **Plant Pathology**, 46: 636-641. 1997. Oxford, n. 5, Oct.

MENZIES, J.; BOWEN, P.; PRET, D.; GLASS, A. D. Foliar applications of potassium silicate reduce severity of powdery mildew on cucumber, muskmelon, and zucchini squash. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, v. 117, n. 6, p. 902-905, 1992. Nov.

NAKAYAMA, L. H. I.; ANDERBRHAN, T.; ALBUQUERQUE, P. S. B. Indução de resistência em *Theobroma cacao* ao *Crinipellis pernicioso*, agente causador da vassoura-de-bruxa, através de fertilizantes e ácido salicílico. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FERTILIDADE DO SOLO E NUTRIÇÃO DE PLANTAS – FertBio, 23., 1998, Caxambu, MG. Resumos... Lavras: UFLA/SBCS/SBM, 1998. p. 527.

NIELLA, G. R.; RESENDE, M. L. V.; CASTRO, H. A.; CARVALHO, G. A.; SILVA, L. H. C. P. Aperfeiçoamento da metodologia de produção artificial de basidiocarpos de *Crinipellis pernicioso*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 523-527, dez. 1999.

NOJOSA, G. B. A. Participação de fenóis e enzimas oxidativas nos mecanismos bioquímicos de resistência constitutiva e induzida do cacauero (*Theobroma cacao* L.) à *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer. 1999. 85 p. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, DF.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Hospedeiro: mecanismos de resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.) **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. São Paulo: Agronômica Ceres, 1995. v. 1, p. 417-53.

PEREZ, J. O. Caracterização de isolados de *Crinipellis pernicioso*, indução de resistência á vassoura-de-bruxa no cacauero e análise de peroxidase na

interação planta-patógeno. 2002. 81 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

RESENDE, M. L. V.; NIELLA, G. R.; CARVALHO, G. A.; SILVA, L. H. C. P. Comparação de diferentes técnicas para criopreservação de basidiósporos de *Crinipellis pernicioso*. **Fitopatologia Brasileira**. 23: 266,. 1998. Brasília.. Suplemento. Ago.

RESENDE, M. L. V.; NOJOSA, G. B. A.; SILVA, L. H. C. P.; AGUILAR, M. A. G.; NIELLA, G. R.; CARVALHO, G. A.; GIOVANINI, G. R.; CASTRO, R. M. Perspectivas da indução de resistência em cacaueteiro contra *Crinipellis pernicioso* através do benzothiadiazole (BTH). **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 25, n. 2, p. 149-156, jun. 2000.

RESENDE, M. L. V.; NOJOSA, G. B. A.; CAVALCANTI, L. S.; AGUILAR, M. A. G.; SILVA, L. H. C. P.; ANDRADE, G. C. G.; CARVALHO, G. A.; CASTRO, R. M. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). **Plant Pathology**, (2002) 51, 621-628 p.Oxford, n. 5, Oct.

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG 8. 0.** Viçosa: UFV, 1999. 97 p. Apostila (Mimeografada).

UKNES, S.; VERNOOIJ, B.; MORRIS, S.; CHANDLER, D.; STEINER, H.; SPECKER, N.; HUNT, M.; LAWTON, K.; RYALS, J. Reduction of risk for growers: methods for the development of disease-resistant crops. **New Phytologist**, Cambridge, v. 133, n. 1, p. 3-10, May 1996.

CAPÍTULO 3

**ATIVIDADE FUNGITÓXICA DE EXTRATOS DE PLANTAS SOBRE
Crinipellis perniciosa (Stabel) Singer e *Verticillium dahliae* Kleb.,
AGENTES RESPECTIVOS DA VASSOURA-DE-BRUXA E DA
MURCHA-VASCULAR em *Theobroma cacao* L.**

1 RESUMO

SILVA, Íris Lettiere do Socorro Santos da. Atividade fungitóxica de extratos de plantas sobre *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer e *Verticillium dahliae* Kleb., agentes respectivos da vassoura-de-bruxa e da murchar vascular em *Theobroma cacao* L. 2003. 38 - 62 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia-Fitopatologia) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

*

Vários estudos têm sido realizados para verificar a atividade biológica de extratos de plantas e sua utilização como ferramenta adicional no controle alternativo de fitodoenças. Neste sentido, foi realizado um ensaio *in vitro* para se avaliar a atividade fungitóxica dos extratos de 50 espécies de plantas sobre os fungos *Crinipellis pernicioso* e *Verticillium dahliae*. Os extratos foram testados nas concentrações 10%, 5%, 2,5%, 1,25% e 0,625% (massa fresca de planta em gramas/volume de solução aquosa de Tween 80 a 1% g/mL). Foi calculada a dose capaz de inibir em 50% a germinação (CI₅₀) dos respectivos esporos fúngicos. Os extratos de 47 plantas do cerrado apresentaram efeito inibidor variável sobre a germinação de *C. pernicioso* e dois extratos apresentaram inibição total da germinação a *C. pernicioso* (*Glechoma hederaceae*; *Ilex brasiliensis*). Para *V. dahliae*, 18 extratos apresentaram algum efeito inibidor e quatro extratos inibição total (*Glechoma hederaceae*; *Ilex brasiliensis*; *Svitramia pulchra*; *Cambessedesia spora* subsp.*ilicifolia*). As concentrações de inibição em 50% (CI₅₀) dos tratamentos mais efetivos sobre a germinação de *C. pernicioso* foram: *Glechoma hederaceae* 1,243% (g/mL); *Ilex brasiliensis* 1,809% (g/mL); *Svitramia pulchra* 1,770% (g/mL); *Cambessedesia spora* subsp.*ilicifolia* 1,109% (g/mL). As respectivas CI₅₀ da germinação de *V. dahliae* foram: *Glechoma hederaceae* 1,370% (g/mL); *Ilex brasiliensis* 1,138% (g/mL); *Svitramia pulchra* 1,177% (g/mL); *Cambessedesia spora* subsp.*ilicifolia* 1,648% (g/mL).

*Comitê Orientador: Mário Lúcio Vilela de Resende - UFLA (Orientador) e Mário Sobral de Abreu - UFLA (Co-orientador), Denilson Ferreira de Oliveira - UFLA.

2 ABSTRACT

SILVA, Íris Lettiere do Socorro Santos da. Fungitoxic activity of plant extracts on *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer and *Verticillium dahliae* Kleb , respective agents of witches' broom and vascular wilt on *Theobroma cacao* L. 2003. 38 - 62 p. (Dissertation–Master in Agronomy/Phytopathology) – Universidade Federal de Lavras, Lavras- MG. *

A number studies have been undertaken to verify the biologic activity of plant extracts and their use as an additional tool in the alternative control of phytodiseases. In this sense, an in vitro trial was to evaluate the phytotoxic activity of the extracts of 50 plant species on the fungi *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahliae*. The extracts were tested at the concentrations 10%, 5%, 2.5%, 1.25% and 0.625% (fresh mass of plants in grams/volume of aqueous solution of 1% Tween 80 g/ml). The dose capable of inhibiting germination by 50% (IC₅₀) of the respective fungal spores was calculated . the extracts of 47 cerrado plants present variable inhibitory effect on the germination of *C. pernicioso* and 2 extracts presented total inhibition of germination to *C. pernicioso* (*Glechoma hederaceae*, *Ilex brasiliensis*). To *V. dahliae*, 18 extracts presented some inhibitory effect and four extracts total inhibition (*Glechoma hederaceae*, *Ilex brasiliensis*, *Svitramia pulchra*, *Cambessedesia spora* subsp *ilicifolia*). The concentrations of inhibition by 50% (IC₅₀) of the most effective treatments on the germination of *C. pernicioso* were *Glechoma hederaceae* 1,243% (g/mL), *Ilex brasiliensis* 1,809% (g/mL), *Svitramia pulchra* 1,770% (g/mL), *Cambessedesia spora* subsp *ilicifolia* 1.109% (g/L). The respective IC₅₀ of the germination of *V. dahliae* were *Glechoma hederaceae* 1,370% (g/mL), *Ilex brasiliensis* 1,138% (g/ml), *Svitramia pulchra* 1,177% (g/ml), *Cambessedesia spora* subsp *ilicifolia* 1,648%(g/mL).

* Guidance Committe: Mario Lúcio Vilela Resende - UFLA (Adviser) and Mário Sobral de Abreu – UFLA (Co-adviser), Denilson Ferreira de Oliveira – UFLA.

3 INTRODUÇÃO

O fungo *Crinipellis pernicioso*, agente causal da vassoura-de-bruxa no cacauero (*Theobroma cacao* L.), é atualmente considerado o principal fator limitante para a produção de cacau no Brasil. Na maioria das regiões produtoras, as medidas de controle da referida doença são: controle químico, controle biológico, controle genético e controle cultural, como podas fitossanitárias, que objetivam diminuir a produção de basidiocarpos pelos tecidos infectados. O controle químico à base de fungicidas cúpricos tornou-se medida antieconômica na cacauicultura, mas o uso de fungicidas pode ser retomado, no contexto da recente alta do preço do cacau no mercado internacional (Ceplac, 1990; Agriannual, 2003).

No caso de *Verticillium dahliae*, fungo causador da murcha de verticillium, doença importante do cacauero, o controle químico pode ser utilizado de forma curativa. No entanto, aplicação de fungicidas de maneira generalizada torna-se economicamente inviável devido à impossibilidade de controlar um fungo de solo em cultivo perene (Resende, 1994).

A sociedade, nos últimos anos, tem priorizado a questão ambiental e, em decorrência, muitas pesquisas foram incentivadas com vistas à obtenção de substâncias bioativas, de baixa toxicidade ao homem e ao ambiente, para serem empregadas no manejo integrado de doenças (Castro, 1989). Em vista disso, atenções têm sido voltadas para o desenvolvimento de produtos alternativos aos fungicidas tradicionais. Nesse segmento de pesquisas, vários trabalhos têm demonstrado sucesso no uso de extratos vegetais e óleos essenciais no controle de fitopatógenos, tanto pela ação direta sobre o patógeno quanto pela ativação de mecanismos de defesa vegetal (Stangarlin et al., 1999)

Apesar do grande potencial de produtos vegetais para o controle de agentes patogênicos de plantas, segundo Di Stasi (1996), a maioria das plantas

da flora brasileira é desconhecida quanto às suas propriedades químicas e biológicas. Ademais, pouco se sabe sobre as atividades biológicas de várias substâncias isoladas de plantas medicinais e silvestres.

Como essas substâncias, na forma bruta ou pura, podem vir a ser de grande utilidade no manejo integrado visando ao controle de doenças, é importante que sejam submetidas a abordagens científicas para que possam ser desenvolvidos métodos de controle seletivos e menos ofensivos ao ambiente.

Em decorrência, este trabalho buscou avaliar a atividade *in vitro* de extratos de plantas abundantes nos cerrados do sul de Minas Gerais sobre *Crinipellis perniciosa* e *Verticillium dahliae*, para identificar espécies vegetais potencialmente úteis no controle dos referidos fungos em cacauero.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fisiologia do Parasitismo do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras (DFP-UFLA), Lavras-MG.

4.1 Obtenção do extrato bruto

Várias espécies de plantas, coletadas dentre as mais abundantes na região Lavras (MG), foram empregadas na realização dos testes *in vitro*. Foram processadas no Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química da Universidade Federal de Lavras, dando origem a 50 extratos brutos (Tabela 1), que foram testados no presente trabalho.

TABELA 1 Espécies vegetais empregadas nos teste *in vitro* sobre *Crinipellis pernicioso* e *Verticillium dahliae*.

Família	Nome científico	Orgão
Apiaceae	<i>Foeniculum vulgare</i> L.	Folhas
Asteraceae	<i>Eremanthus incanus</i> Less	Folhas
Asteraceae	<i>Partenium hysterophorus</i> L.	Folhas
Boraginaceae	<i>Symphytum officinale</i> L.	Folhas
Bourseraceae	<i>Protium heptaphyllum</i> Marsch.	Folhas
Campanulaceae	<i>Wahlenbergia brasiliensis</i> Cham.	Folhas
Celastraceae	<i>Austroplenkia populnea</i> (Reiss.) Lund.	Folhas
Cletraceae	<i>Clethra scabra</i> Pers.	Folhas
Compositae	<i>Achillea millefolium</i> L.	Folhas
Compositae	<i>Achillea millefolium</i> L.	Inflorescência
Compositae	<i>Gochmatia Barrosii</i> Cabr.	Folhas
Convolvulaceae	<i>Merremia tomentosa</i> (Choisy) Hall. f.	Folhas
Dilleniaceae	<i>Davilla elliptica</i> St. Hill.	Folhas
Eritroxilaceae	<i>Erythroxylum suberosum</i> St. Hill.	Folhas
Euforbiaceae	<i>Croton antissiphyliticus</i> Mul. Arg.	Folhas
... continua...		

“ Tabela 1, Cont”

Euforbiaceae	<i>Jatropha curcas</i> L.	Folhas
Flacourtiaceae	<i>Casearia Sylvestris</i> Sw.	Folhas
Geraniaceae	<i>Pelargonium graveolens</i> L.	Folhas
Gentianaceae	<i>Calolisianthus pedunculatus</i> (Cham. & Schlecht.) Gilg.	Folhas
Illiciaceae	<i>Ilex brasiliensis</i> (Spreng.) Loes.	Folhas
Labiatae	<i>Glechoma hederaceae</i> L.	Folhas
Labiatae	<i>Mentha pulegium</i> L.	Folhas
Labiatae	<i>Mentha spicata</i> L.	Folhas
Labiatae	<i>Nepeta catarica</i> L.	Folhas
Labiatae	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Folhas
Labiatae	<i>Salvia officinalis</i> L.	Folhas
Labiatae	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Ramos
Lamiaceae	<i>Ocimum gratissimum</i> L.	Folhas
Liliaceae	<i>Aloe arborescens</i> Mill.	Folhas
Liliaceae	<i>Aloe saponaria</i> (Ait) Haw.	Folhas
Literaceae	<i>Punica granatum</i> L.	Folhas
Malpigiaceae	<i>Byrsonima intermedia</i> Ad. Juss.	Folhas
Malvaceae	<i>Peltaea polymorpha</i> (St. Hil.) Krap. & Crist.	Folhas
Melastomataceae	<i>Cambessedesia espora</i> ssp. <i>ilicifolia</i> A.B. Martins	Folhas
Melastomataceae	<i>Miconia albicans</i> Triana	Folhas
Melastomataceae	<i>Svitramia pulchra</i> Cham.	Folhas
Meliaceae	<i>Cabralea canjerana</i> ssp. <i>polytricha</i> (Ad. Juss.) Penn.	Folhas
Mirtaceae	<i>Campomanesia pubescens</i> (DC) Berg.	Folhas
Nictaginaceae	<i>Mirabilis jalapa</i> L.	Folhas
Ochnaceae	<i>Ourata spectabilis</i> (Mart.) Engl.	Folhas
Plantaginaceae	<i>Plantago lanceolata</i> L.	Folhas
Plantaginaceae	<i>Plantago major</i> L.	Folhas
Poaceae	<i>Coix-lacrima jobi</i> L.	Folhas
Proteaceae	<i>Roupala Montana</i> Aubl.	Folhas
Rubiaceae	<i>Alibertia sessilis</i> (Well.) K. Schum.	Folhas
Rubiaceae	<i>Rudgea viburnoides</i> Benth	Folhas
Rutaceae	<i>Ruta graveolens</i> L.	Folhas
Sapindaceae	<i>Serjania erecta</i> Radlk.	Folhas
Tropaeolaceae	<i>Tropaeolum majus</i> L.	Flores
Tropaeolaceae	<i>Tropaeolum majus</i> L.	Folhas

Dez gramas do órgão vegetal fresco foram picados em pequenos fragmentos e imerso em metanol durante 48 horas. A mistura resultante foi filtrada, colocando-se o resíduo obtido em mais metanol. Passadas 48 horas, procedeu-se a nova filtração. As fases líquidas de ambas as filtrações foram combinadas e concentradas sob vácuo até secura. Obteve-se um resíduo, que foi suspenso em 100 mL de solução aquosa de Tween® 80 a 1% (g/mL). Os extratos assim obtidos foram armazenados em frascos escuros e mantidos sob refrigeração até o momento dos testes.

4.2 Obtenção dos fitopatógenos utilizados nos testes *in vitro*

4.2.1 *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer

Os basidiocarpos de *C. pernicioso* foram obtidos de vassouras secas infectadas, colocadas em vassoureiro (câmara úmida indutora de formação de basidiocarpos) localizado no DFP-UFLA ou em meio artificial à base de farelo-vermiculita, de acordo com a metodologia de modificada por Niella et al. (1999). Foram utilizados para a obtenção de basidiósporos em overnight depositados em glicerol 16%, conforme Frias et al.,(1995) e a suspensão de basidiósporos em glicerol 16%. Foram armazenados em “deep freezer” a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ conforme Resende et al. (1998). A porcentagem de germinação dos basidiósporos foi determinada antes da armazenagem, em lâminas escavadas de três cavidades. Determinou-se a porcentagem de esporos germinados, amostrando-se 200 basidiósporos/cavidade em todos os pontos da cavidade.

4.2.2 *Verticillium dahliae* Kleb

O isolado de *V. dahliae* foi obtido de plântulas de cacau e cultivado em meio de cultura BDA (batata, dextrose e ágar) durante 25 dias, em câmara de crescimento, a uma temperatura em torno de 25°C , em regime de 12 horas de claro e 12 horas de escuro. Após atingir o crescimento micelial máximo na placa de Petri, adicionaram-se 20 mL de água destilada em cada placa, retirando-se os esporos do micélio fúngico com auxílio de pincel. Posteriormente, o homogeneizado foi filtrado em gaze, a suspensão foi padronizada em 1×10^5 confídios/ mL de água, em câmara de Neubauer.

4.3 Efeito de extratos de plantas *in vitro* sobre a germinação de *Crinipellis perniciosa* e *Verticillium dahliae*

A seleção dos extratos foi realizada em três experimentos para *C. perniciosa* e em dois experimentos para *V.dahliae*.

Após a seleção dos extratos, o teste *in vitro* foi realizado seguindo a mesma metodologia para os dois patógenos fúngicos, consistindo em delineamento inteiramente casualizado com cinco concentrações e três repetições por extrato de planta.

O ensaio foi realizado em lâmina escavada com três cavidades. Em cada cavidade foram colocados 40µL de suspensão de esporos na concentração de 1×10^5 basidiósporos/mL de água para *C. perniciosa*, ou conídios/mL de água para *V. dahliae* e 40µL do extrato (tratamento). As lâminas foram incubadas em ambiente saturado e mantidas a 25°C, sob regime de 12 horas claro e 12 horas escuro. Após o período de incubação (24 horas) paralizou-se a germinação do fungo com a adição de 40µL de lactoglicerol na cavidade. A testemunha foi constituída apenas em 40µL de esporos fúngicos na concentração de 10^5 / mL e 40µL de água destilada e após 24 horas 40µL de lactoglicerol para paralização germinativa do fungo. Em seguida, foi determinada a porcentagem de esporos germinados, amostrando-se 200 esporos/cavidade, sendo contados em formato de cruz para uma amostragem mais representativa dos esporos. Os resultados experimentais foram submetidos à análise de variância e teste de médias utilizando o software estatístico Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas da Universidade Federal de Viçosa (SAEG) 8.0 (Ribeiro Jr., 1999). A comparação das médias foi realizada com base no teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

Para se determinar a concentração que inibia a germinação dos fungos em 50% (CI₅₀), os extratos foram diluídos em série a partir da solução estoque de cada planta, consistindo nas seguintes concentrações: 10%, 5%, 2.5%, 1,25% e 0,625% (massa de planta fresca em gramas/volume de solução de Tween 80 a 1% em mililitros). A porcentagem de inibição corrigida da germinação foi determinada pela fórmula de Abbott: % de inibição corrigida = (n° esporos não germinados no tratamento fungitóxico - n° esporos não germinados na testemunha) x 100 / (n° esporos germinados na testemunha) x 100. A CI₅₀ foi determinada pela análise de Próbite (modelos bioestatísticos) aplicada para o entendimento de organismos frente a substâncias tóxicas (Finney,1952).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Efeito de extratos de plantas *in vitro* sobre a germinação de *Crinipellis pernicioso* e *Verticillium dahliae*

Nos experimentos realizados para seleção de extratos metanólicos bioativos sobre *C. pernicioso* pôde-se observar, que, dos cinquenta extratos brutos testados o fungo apresentou inibição variável em 47 deles. Dentre estes dois inibiram totalmente a germinação fúngica, *Glechoma hederaceae* e *Ilex brasiliensis* e apenas três extratos não apresentaram qualquer ação inibitória (Tabela 1, Tabela 2 e Tabela 3).

TABELA 1 Inibição dos basidiósporos do fungo *Crinipellis pernicioso*, em função de extratos de plantas do Cerrado Mineiro no primeiro experimento. Lavras, 2003.

Extrato metanólico de plantas	Inibição da germinação de basidiósporos (%)
<i>Achillea millefolium</i>	80,16 c
<i>Achillea millefolium</i>	70,16 d
<i>Alibertia sessilis</i>	80,00 c
<i>Cabralea canjerana</i> ssp <i>polytricha</i>	52,66 e
<i>Clethra scabra</i>	85,66 b
<i>Eremanthus incanus</i>	78,33 c
<i>Erythroxylum suberosum</i>	33,66 g
<i>Glechoma hederaceae</i>	100,00 a
<i>Gochnatia Barrosil</i>	88,33 b
<i>Ilex brasiliensis</i>	100,00 a
<i>Nepeta catarica</i>	71,66 d
<i>Ocimum gratissimum</i>	47,66 f
<i>Partenium hysterophorus</i>	83,16 c
<i>Peltaea polymorpha</i>	34,00 g
<i>Plantago lanceolata</i>	17,66 i
<i>Plantago major</i>	81,83 c
<i>Ruta graveolens</i>	68,33 d
... cont...	

“ Tabela 1, Cont”

<i>Symphytum officinale</i>	47,66 f
<i>Thymus vulgaris</i>	46,66 f
Testemunha	22,00 h

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott & Knott (P< 0,05).

TABELA 2 Inibição dos basidiósporos do fungo *Crinipellis pernicioso*, em função de extratos de plantas do Cerrado Mineiro no segundo experimento. Lavras, 2003.

Extrato metanólico de plantas	Inibição da germinação basidiósporos (%)
<i>Aloe saponaria</i>	23,83 j
<i>Austroplenkia populnea</i>	48,33 g
<i>Byrsonima intermedia</i>	58,33 f
<i>Cambessedesia spora ssp. ilicifolia</i>	91,83 a
<i>Calolisianthus pedunculatus</i>	72,16 d
<i>Campomanesia pubescens</i>	85,83 b
<i>Coix-lacrima jobi</i>	79,66 c
<i>Croton antissiphyliticus</i>	33,83 h
<i>Davilla elliptica</i>	51,66 g
<i>Mentha pulegium</i>	58,33 f
<i>Merremia tomentosa</i>	48,33 g
<i>Miconia albicans</i>	58,66 f
<i>Mirabilis jalapa</i>	63,66 e
<i>Protium heptaphylum</i>	78,16 c
<i>Roupala Montana</i>	34,16 h
<i>Salvia officinalis</i>	66,50 e
<i>Svitramia pulchra</i>	94,00 a
<i>Tropaeolum majus</i> (folhas)	67,00 e
Testemunha	27,83 i

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott & Knott (P< 0,05).

TABELA 3 Inibição dos basidiósporos do fungo *Crinipellis pernicioso*, em função de extratos de plantas do Cerrado Mineiro no terceiro experimento. Lavras, 2003.

Extrato metanólico de plantas	Inibição da germinação basidiósporos (%)
<i>Aloe arborescens</i>	62,83 b
<i>Casearia sylvestris</i>	50,83 c
<i>Foeniculum vulgare</i>	31,66 d
<i>Mentha spicata</i>	28,00 e
<i>Jatropha curcas</i>	52,50 c
<i>Ourata spectabilis</i>	14,00 g
<i>Pelargonium graveolens</i>	27,83 e
<i>Punica granatum</i>	67,50 b
<i>Rosmarinus officinalis</i>	73,33 a
<i>Rudgea viburnoides</i>	67,66 b
<i>Serjania erecta</i>	53,00 c
<i>Tropaeolum majus</i> (flores)	35,00 d
<i>Wahlenbergia brasiliensis</i>	64,16 b
Testemunha	22,83 f

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott & Knott ($P < 0,05$).

Dentre os cinquenta extratos de plantas do cerrado testados sobre *V. dahliae*, observou-se que apenas dezenove extratos brutos de plantas apresentaram ação tóxica sobre a germinação desse fungo e quatro extratos apresentaram inibição total da germinação *Glechoma hederaceae*, *Ilex brasiliensis*, *Svitramia pulchra* e *Cambessedesia spora* ssp. spora (Tabela 4 e 5).

TABELA 4 Inibição da germinação de esporos de *Verticillium dahliae*, em função de extratos de plantas do Cerrado Mineiro no primeiro experimento. Lavras, 2003.

Extrato metanólico de plantas	Inibição da germinação esporos (%)
<i>Achillea millefolium</i> (folhas)	35,00 b
<i>Achillea millefolium</i> (flores)	25,66 c
<i>Aloe arborescens</i>	22,83 d
<i>Aloe saponaria</i>	37,83 b
<i>Austroplenkia populnea</i>	34,16 b
<i>Casearia sylvestris</i>	29,00 c
<i>Campomanesia pubescens</i>	27,16 c
<i>Coix-lacrima jobi</i>	15,00 e
<i>Croton antissiphyliticus</i>	31,83 b
<i>Foeniculum vulgare</i>	27,16 c
<i>Jatropha curcas</i>	3,33 g
<i>Mentha pulegium</i>	23,00 d
<i>Mentha spicata</i>	30,00 c
<i>Mirabilis jalapa</i>	20,83 d
<i>Nepeta catarica</i>	8,16 f
<i>Ocimum gratissimum</i>	13,83 e
<i>Plantago lanceolata</i>	29,66 c
<i>Plantago major</i>	28,50 c
<i>Punica granatum</i>	28,00 c
<i>Rosmarinus officinalis</i>	11,16 f
<i>Ruta graveolens</i>	28,16 c
<i>Salvia officinalis</i>	11,50 f
<i>Serjania erecta</i>	26,66 c
<i>Tropaeolum majus</i> (flores)	3,33 g
<i>Tropaeolum majus</i> (folhas)	2,16 g
<i>Thymus vulgaris</i>	17,66 d
<i>Wahlenbergia brasiliensis</i>	18,83 d
Testemunha	29,83 c

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott & Knott (P < 0,05).

TABELA 5 Inibição da germinação de esporos de *Verticillium dahliae*, em função de extratos de plantas do Cerrado Mineiro no segundo experimento. Lavras – 2003.

Extrato metanólico de plantas	Inibição da germinação esporos (%)
<i>Glechoma hederaceae</i>	100,00 a
<i>Ilex brasiliensis</i>	100,00 a
<i>Svitramia pulchra</i>	100,00 a
<i>Cambessedesia spora ssp. ilicifolia</i>	100,00 a
<i>Miconia albicans</i>	91,16 b
<i>Protium heptaphyllum</i>	90,66 b
<i>Alibertia sessilis</i>	88,33 b
<i>Byrsonima intermedia</i>	85,16 b
<i>Clethra scabra</i>	80,16 b
<i>Calolisianthus pedunculatus</i>	69,33 c
<i>Davilla elliptica</i>	61,66 d
<i>Merremia tomentosa</i>	60,83 d
<i>Symphytum officinale</i>	26,66 e
<i>Eremanthus incanus</i>	23,66 e
<i>Cabralea canjerana ssp polytricha</i>	21,16 e
<i>Peltaea polymorpha</i>	18,16 f
<i>Ourata spectabilis</i>	17,66 f
<i>Gochnatia barrosil</i>	15,16 f
<i>Partenium hysterophorus</i>	9,66 g
<i>Erythroxylum suberosum</i>	8,00 g
<i>Rudgea viburnoides</i>	5,00 h
Testemunha	25,50 e

* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente entre si, pelo teste de Scott & Knott ($P < 0,05$).

Dentre os quatro extratos de plantas (*Ilex brasiliensis*, *Glechoma hederaceae*, *Svitramia pulchra*, *Cambessedesia spora ssp. ilicifolia*) que inibiram o fungo *V. dahliae*, dois (*Ilex brasiliensis*, *Glechoma hederaceae*) foram efetivos em inibir a germinação de *C. pernicioso* e outros dois (*Svitramia pulchra*, *Cambessedesia spora ssp. ilicifolia*) apresentaram potencial inibidor da germinação. Não existe relato na literatura indicando atividade antifúngica desses extratos.

No entanto, os demais extratos apresentaram atividade variada, não apresentando relação de atividade biológica entre os dois fungos, ou seja, um extrato que apresentou inibição relativa sobre *C. pernicioso* não obteve o necessariamente, mesmo resultado para *V. dahliae*.

5.2 Descrição das espécies vegetais cujos extratos apresentaram maior atividade *in vitro*

5.2.1 *Cambessedesia espora* subsp *ilicifolia* (DC) A B. Martins

O gênero *Cambessedesia* é composto de 22 espécies com distribuição restrita ao território brasileiro, estendendo-se do Piauí ao Paraná, apresentando maior concentração de espécies nas serras de Minas Gerais. A espécie *Cambessedesia espora* subsp *ilicifolia* (DC) A B. Martins é uma planta silvestre, pertencente à família Melastomataceae (Matsumoto,1999). Segundo Pena (1946), o gênero *Cambessedesia* possui propriedades medicinais, sendo conhecida popularmente como arbusto do agreste.

5.2.2 *Svitramia pulchra* Cham

A espécie *Svitramia pulchra* Cham. pertence à família Melastomataceae, possui forma arbustiva e pode ser observada em afloramentos rochosos. Tem ampla distribuição na região do cerrado brasileiro (Matsumoto, 1999).

5.2.3 *Ilex brasiliensis* (Spreng.) Loes.

Pertence à família Iliaceae. É uma planta arbustiva, aromática e apresenta propriedades medicinais. Na fitoterapia, é utilizada como diurética,

laxante e sudorífera. Conhecida vulgarmente como erva acebo ou mate, possui ampla distribuição América do Sul (Alzugaray et al., 1998).

5.2.4 *Glechoma hederaceae* L.

A espécie *Glechoma hederaceae* L. é uma planta silvestre, pertencente a família Labiatae, muito comum na Europa meridional, Ásia, Japão e bastante disseminada no Brasil. Esta espécie é conhecida vulgarmente como erva terrestre, sendo cultivada com fins ornamentais devido a beleza de suas flores e cheiro agradável, como para fins medicinais por ser aromática, ter substâncias amargas, acre e balsâmico utilizada para combater bronquites e infecções intestinais (Schauenberg, 1980; Alzugaray et al., 1998).

5.3 Concentração necessária para inibir 50 % da germinação *in vitro* de *Crinipellis perniciosa* e *Verticillium dahliae*.

A inibição na germinação de *Crinipellis perniciosa* e *Verticillium dahliae* foi diretamente proporcional à concentração dos extratos de plantas com maior bioatividade (Tabela 6 e Tabela 7). Resultado análogo foi observado por Bastos (1997), que verificou aumento na germinação de *C. perniciosa* em relação a baixas concentrações de substâncias tóxicas derivadas de outras plantas.

TABELA 6 Efeito *in vitro* de extratos de plantas do cerrado na germinação de basidiósporos de *C. pernicioso*.

¹ Concentração do extrato (% em g/mL)	% de germinação de basidiósporos *			
	<i>G.hederaceae</i>	<i>I. brasiliensis</i>	<i>S.pulchra</i>	<i>C.spora</i>
10	1,0±2,6*	0,6±1,5*	3,0±2,0*	3,3±2,1*
5	4,5±2,6	1,6±3,2	12,3±3,7	15,1±4,5
2,5	17,5±4,3	22,8±5,5	36,6±4,1	35,5±5,5
1,25	47,1±4,9	35,00±5,5	52,5±4,5	53,1±6,6
0,625	61,1±6,1	60,00±4,0	65,5±4,0	66,1±8,5

¹ massa de folhas frescas em gramas/volume de solução de Tween mililitros

* % de germinação em relação a testemunha; média de três repetições

† Desvios das médias após transformação percentual em relação a testemunha.

TABELA 7 Efeito *in vitro* de extratos de plantas do cerrado na germinação de esporos de *V. dahliae*.

¹ Concentração do extrato (% em g/L)	% de germinação de esporos *			
	<i>G.hederaceae</i>	<i>I. brasiliensis</i>	<i>S.pulchra</i>	<i>C.spora</i>
10	3,0±1,0*	1,16±0,6*	2,6±3,0*	3,6±3,3*
5	11,1±2,6	8,33±1,5	6,8±5,8	11,6±7,6
2,5	20,1±5,0	13,0±7,5	16,3±6,5	20,8±2,6
1,25	42,3±5,5	38,8±5,2	39,8±5,0	50,1±3,7
0,625	58,6±3,7	54,8±7,0	57,6±4,0	63,8±5,8

¹ massa de folhas frescas em gramas/volume de solução de Tween mililitros

* % de germinação em relação a testemunha; média de três repetições

† Desvios das médias após transformação percentual em relação a testemunha.

A análise de Próbite permitiu observar que as concentrações dos extratos que inibem em 50% a germinação dos basidiósporos (CI₅₀) de *C. pernicioso* foram: *Glechoma hederaceae* 1,243% (g/mL); *Ilex brasiliensis* 1,809% (g/mL), *Svitramia pulchra* 1,177% (g/mL), *Cambessedesia spora* subsp. *ilicifolia* 1,109% (g/mL) e para os conídios de *V. dahliae* foram: *Glechoma hederaceae* 1,370% (g/mL), *Ilex brasiliensis* 1,138% (g/mL),

Svitramia pulchra 1,100% (g/mL), *Cambessedesia spora subsp. ilicifolia* 1,648% (g/mL). Esses extratos possuem ação inibidora nessas concentrações, com 95% de confiabilidade e 95% de probabilidade que a CI_{50} está contida em seu respectivo intervalo de confiança (Tabela 8 e 9).

A análise de próbite é adequada para explicar resposta de organismos vivos a concentração de toxicogênicos, mortalidade, sensibilidade, bem como inibição de germinação em função de concentrações de substâncias tóxicas (Finney, 1952).

TABELA 8 Efeito de extratos de plantas do cerrado *in vitro* sobre a germinação de basidiósporos de *Crinipellis pernicioso*, e CI_{50} , concentração de inibição da germinação em 50%.

Extrato	Equação da reta ¹	R ²	χ^2	CI_{50} (IC _{95%}) ²
<i>G. hederaceae</i>	$Y = 2,3322 + 2,4374X$	0,95	5,48ns	1,243 (1,006;1,537)
<i>I. brasiliensis</i>	$Y = 2,4250 + 2,0477X$	0,98	4,63ns	1,809 (1,472;2,223)
<i>S. pulchra</i>	$Y = 2,3518 + 2,1218X$	0,89	7,60ns	1,770 (1,368;2,290)
<i>C. spora ilicifolia</i>	$Y = 2,4242 + 2,4644X$	0,45	16,67	1,109 (0,75;1,624)

¹Y = Mortalidade (próbite) e X = logaritmo da concentração.

²IC=intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

χ^2 = Qui-quadrado calculado.

ns= não significativo ($\chi^2 < 0,05$).

TABELA 9 Efeito de extratos de plantas do cerrado *in vitro* sobre a germinação de conídios de *Verticilium dahliae*, e CI₅₀, concentração de inibição da germinação em 50%.

Extrato	Equação da reta ¹	R ²	χ ²	CI ₅₀ (IC _{95%}) ²
<i>G. hederaceae</i>	Y = 2,6919 + 2,0302X	0,95	1,87 ns	1,370(1,190;1,577)
<i>I. brasiliensis</i>	Y = 2,6804 + 2,1961X	0,92	7,75 ns	1,138 (0,856;1,512)
<i>S. pulchra</i>	Y = 2,5938 + 2,2471X	0,32	11,00	1,177(0,848;1,638)
<i>C.spora ilicifolia</i>	Y= 2,2347 + 2,2720X	0,95	5,47 ns	1,648(1,337;2,033)

¹Y = Mortalidade (próbite) e X = logaritmo da concentração.

²IC=intervalo de confiança a 95% de probabilidade.

χ² = Qui-quadrado calculado.

ns= não significativo (χ² < 0,05).

O efeito tóxico dos extratos de plantas a esses fitopatógenos estudados pode estar relacionado à presença de taninos (substâncias antimicrobiana) e substâncias amargas presentes nos extratos de *Glechoma hederaceae*, *Ilex brasiliensis*, *Cambessedesia spora* subsp. *ilicifolia*, relatados como princípios ativos de propriedade medicinal (Alzugarray, 1998; Scalbert,1991; Grayer et al.,1994; Simões et al., 200).

Existem relatos de vários compostos antimicrobianos de plantas da família Labiatae presentes em espécies como alecrim (*Rosmarinus officinalis*), alfavaca (*Ocimum basilicum*), alfazema (*Lavandula officinalis*) e hortelã (*Mentha piperita*). Os extratos dessas plantas têm ação antifúngica sobre *Cladosporium herbarum*, *C. cladosporioides* e *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Grayer et al., 1994). Estudos vêm sendo conduzidos com a espécie *Glechoma hederaceae* que apresenta potencial herbicida, pois possui atividade alelopática a outras plantas (Takahashi et al., 1995). Segundo Alzugarray (1998), a espécie apresenta gleocomina e tanino como princípios ativos.

Dentre as espécies da família Iliaceae está o gênero *Ilex*, que apresenta em sua constituição, taninos, alcalóides como a cafeína, teobromina, triterpenóides, ácidos clorogênico e neoclorogênico, são atribuídas a plantas desse gênero propriedades antimicrobianas (Haragushi et al.,1999).

Na família Melastomataceae foi encontrado relato de 1946, atribuindo ao gênero *Cambessedessia* propriedade medicinal. Ela contém substâncias amargas e adstringentes, como taninos, possuindo ação bactericida e fungicida (Scalbert,1991). Em relação ao gênero *Svitramia*, não foram encontrados relatos de compostos antimicrobianos ou propriedade medicinal, necessitando de estudos sobre a atividade biológica do mesmo.

Cabe ressaltar que estudos conclusivos devem ser realizados, a fim de elucidar os mecanismos envolvidos no efeito antimicrobiano desses extratos de plantas, bem como testes *in vivo*, para confirmação de atividade.

6 CONCLUSÕES

1. Dentre os cinquenta extratos de plantas do cerrado mineiro testados, 47 extratos apresentaram efeito inibidor sobre a germinação de *Crinipellis perniciosa* e dezenove extratos de plantas inibiram a germinação de *Verticillium dahliae*.
2. Os extratos metanólicos de *Glechoma hederaceae* e *Ilex brasiliensis* apresentaram efeito inibidor máximo da germinação de basidiósporos de *Crinipellis perniciosa* e os extratos de *Glechoma hederaceae*; *Ilex brasiliensis*; *Svitramia pulchra* e *Cambessedesia spora* ssp. *ilicifolia* apresentaram efeito inibidor à germinação de *Verticillium dahliae*.
3. As concentrações para inibição de 50% (CI₅₀) da germinação de *C. perniciosa* pelos extratos mais efetivos foram: *Glechoma hederaceae* 1,243% (g/mL); *Ilex brasiliensis* 1,809% (g/mL); *Svitramia pulchra* 1,770% (g/mL); *Cambessedesia spora* subsp. *ilicifolia* 1,109 % (g/mL).
4. As concentrações dos extratos de plantas do cerrado mais eficientes contra *V. dahliae* , que inibiram em 50% (CI₅₀) a germinação de conídios desse fungo foram: *Glechoma hederaceae* 1,370% (g/mL); *Ilex brasiliensis* 1,138% (g/mL); *Svitramia pulchra* 1,177% (g/mL); *Cambessedesia spora* subsp. *ilicifolia* 1,648% (g/mL).

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL 2003. FNP Consultoria & Comércio. **Mercado & Perspectivas – Cacau**. 2003. p. 244-248.

ALZUGARAY, D.; ALZUGARAY, C. **Enciclopédia de Plantas Brasileiras**. São Paulo: Ed. Três, 1998. 318 p

BASTOS, C. N. Efeito do óleo de *Piper aduncun* sobre *Crinipellis pernicioso* e outros fungos fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 22, p. 441-443. 1997. Brasília, n. 3, set.

CASTRO, A G. **Defensivos agrícolas como um fator ecológico**. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 1989. (EMBRAPA-CNPDA. Documento, 6).

CEPLAC. Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira. **Conheça a vassoura-de-bruxa**. Ilhéus: Centro de Pesquisas do Cacau, 1990. 17p

DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência – um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: FUNEP, 1996. 231 p.

FINNEY, D. J. **Probit Analysis**. Cambridge: Cambridge University Press, 1952. 255 p.

FRIAS, G. A.; PURDY, L. H.; SCHMIDT, R. A. An inoculation method for evaluate resistance of cocoa to *Crinipellis pernicioso*. **Plant Disease**, St. Paul, v. 79, n. 8, p. 787-791, Aug. 1995.

GRAYER, R. J.; HARBORNE, J. B. A survey of antifungal compounds from higher plants, 1982-1993. **Phytochemistry**, v. 37, n. 1, p. 19-42, 1994. Oxford, Jan.

HARAGUCHI, H.; KATAOKA, S.; OKAMOTO, S.; HANAFI, M.; SHIBATA, K. Antimicrobial triterpenes from *Ilex* and mechanism of antifungal action. **Phytotherapy Research**, Sussex, v. 13, n. 2, p. 151-156, Mar. 1999.

MATSUMOTO, K. **A família Melastomataceae Juss. nas formações campestres do município de Carrancas, MG**. 1999. 111 p. Dissertação (Mestrado em Biologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

NIELLA, G. R.; RESENDE, M. L. V.; CASTRO, H. A. , CARVALHO, G. A.; SILVA, L. H. C. P. Aperfeiçoamento da metodologia de produção artificial de basidiocarpos de *Crinipellis perniciosa*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 24, n. 4, p. 523-527, dez. 1999.

PENNA, M. **Dicionário brasileiro de plantas medicinais: descrição das plantas medicinais e das exóticas aclimatadas no Brasil**. Rio de Janeiro: Kosmos, 3. ed. 1946. p. 409.

RESENDE, M. L. V.; NIELLA, G. R.; CARVALHO, G. A.; SILVA, L. H. C. P. Comparação de diferentes técnicas para criopreservação de basidiósporos de *Crinipellis perniciosa*. **Fitopatologia Brasileira**, 23: 266. 1998. Brasília, Suplemento. Ago

RIBEIRO JÚNIOR, J. I. **Análises estatísticas no SAEG 8. 0**. Viçosa: UFV, 1999. 97 p. Apostila (Mimeografada).

SCALBERT, A. Antimicrobial properties of tannins. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3875-3883. 1991. Oxford, n. 12, Dec.

SCHAUENBERG, P.; PARIS, F. **Guía de las plantas medicinales**. Barcelona: Ômega, 1980. 420 p.

SIMÕES, C. M.; SHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. rev. Porto Alegre: UFRGS/UFSC, 2000. 821 p.

STARGALIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F; CRUZ, M. E. S.; NOZAKI, M. H. Plantas Medicinais e controle alternativo de fitopatógenos. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, Uberlândia, n. 11, p. 16-21, nov./dez. 1999. Uberlândia, v.2.

TAKAHASHI, Y.; SAITOH, S.; OTANI, I.; UOZIMIS.; HAGINO, K.; IGARASHI, R. Studies on allelopathic interactions among some grassland species. **Grassland Science**, 1995. 41: 3, p. 232-239.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

O indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) pode ser utilizado como ferramenta adicional ao manejo de doenças do cacau, contudo vale ressaltar que a indução de resistência está condicionada ao material genético e a idade da planta.

Nos experimentos realizados com mudas de cacau, clone SIC-23, o efeito protetor da combinação de micronutrientes ou silicato de potássio com o indutor de resistência foi similar aos respectivos tratamentos isolados. No entanto, houve uma potencialização do efeito das dosagens menores quando combinadas ao indutor.

Resultado semelhante foi encontrado no experimento que combinou o ASM com fungicidas de diversos grupos, onde o efeito protetor dos fungicidas isolados foi equivalente aos fungicidas combinados com o indutor.

Outros parâmetros podem ser estudados como o peso seco das vassouras em relação ao peso da parte aérea das mudas, além da quantidade de micronutrientes na folha para observar-se se os mesmos foram metabolizados na planta ou depositaram-se nas folhas exercendo toxicidade direta a fungos.

Outras alternativas têm sido estudadas para verificação da ação de substâncias de origem natural sobre fitopatógenos, a fim de que possam servir de subsídios para o manejo integrado.

De maneira geral, após o ranqueamento de potencial toxicidade a fungos, deve-se realizar estudos fitoquímicos para que se possa elucidar os mecanismos e/ou substâncias envolvidas nessa inibição.

ANEXOS

ANEXO A	Pág
TABELA 1A Resumo da análise de variância para descrever o efeito de níveis dosagens de micronutrientes foliares isolados e combinados com acibenzolar-S-metil na indução de resistência em mudas de cacau.....	65
TABELA 2A Resumo da análise de variância para o efeito do uso de fungicidas puros e misturados com ASM na proteção à vassoura de bruxa em mudas de cacau.....	65
TABELA 3A Resumo da análise de variância para descrever o efeito de extratos de plantas do cerrado mineiro sobre a inibição da germinação de <i>Crinipellis perniciosa</i> , experimento I.....	65
TABELA 4A Resumo da análise de variância para descrever o efeito de extratos de plantas do cerrado mineiro sobre a inibição da germinação de <i>Crinipellis perniciosa</i> , experimento II.....	66
TABELA 5A Resumo da análise de variância para descrever o efeito de extratos de plantas do cerrado mineiro sobre a inibição da germinação de <i>Crinipellis perniciosa</i> , experimento II.....	66
TABELA 6A Resumo da análise de variância para descrever o efeito de extratos de plantas do cerrado mineiro sobre a inibição da germinação de <i>Verticillium dahliae</i> , experimento I.....	66
TABELA 7A Resumo da análise de variância para descrever o efeito de extratos de plantas do cerrado mineiro sobre a inibição da germinação de <i>Verticillium dahliae</i> , experimento II.....	66

TABELA 1A: Resumo da análise de variância descrever o efeito de níveis dosagens de micronutrientes foliares isolados e combinados com acibenzolar-S-metil na indução de resistência em mudas de cacau.

Fonte de Variação	G.L	S.Q	Valor F	P
Bloco	3	1035.000	4.47	.0052
Tratamento	19	13535.00	9.22	.0000
Erro(a)	57	10348.000	2.35	.0000
Avaliação	2	8555.833	55.40	.0000
Avaliação*Tratamento	38	3177.500	1.08	.3636
Erro(b)	120	9266.655		

CV (%)= 19.784

Média Geral = 44.417

TABELA 2A: Resumo da análise de variância do efeito do uso de fungicidas puros e misturados com ASM em relação a incidência de vassoura de bruxa em mudas de cacau em três épocas de avaliação.

Fonte de Variação	G.L	S.Q	Valor F	P
Bloco	3	558.3333	6.48	.0008
Tratamento	8	27466.67	119.61	.0000
Erro(a)	24	3666.667	5.32	.0000
Avaliação	2	9772.223	170.23	.0000
Avaliação*Tratamento	16	1611.111	3.51	.0003
Erro(b)	54	1550.001		

CV (%)= 13.679

Média Geral = 39.167

TABELA 3A: Resumo da análise de variância para descrever o efeito de extratos de plantas do cerrado mineiro sobre a inibição da germinação de *Crinipellis pernicioso*, experimento I.

Fonte de Variação	G.L	S.Q	Valor F	P
Tratamento	19	116.9820	245.580	.0000
Resíduo	40	1.431473		

C.V= 2.407

TABELA 4A: Resumo da análise de variância para descrever o efeito de extratos de plantas do cerrado mineiro sobre a inibição da germinação de *Crinipellis pernicioso*, experimento II.

Fonte de Variação	G.L	S.Q	Valor F	P
Tratamento	18	108.0355	231.020	.0000
Resíduo	38	.9872513		

C.V= 2.111

TABELA 5A: Resumo da análise de variância para descrever o efeito de extratos de plantas do cerrado mineiro sobre a inibição da germinação de *Crinipellis pernicioso*, experimento III.

Fonte de Variação	G.L	S.Q	Valor F	P
Tratamento	13	91.20162	148.704	.0000
Resíduo	28	1,320976		

C.V= 3.259

TABELA 6A: Resumo da análise de variância para descrever o efeito de extratos de plantas do cerrado mineiro sobre a inibição da germinação de *Verticillium dahliae*, experimento I.

Fonte de Variação	G.L	S.Q	Valor F	P
Tratamento	29	160.2959	54.773	.0000
Resíduo	60	6.054886		

C.V= 6.796

TABELA 7A: Resumo da análise de variância para descrever o efeito de extratos de plantas do cerrado mineiro sobre a inibição da germinação de *Verticillium dahliae*, experimento II.

Fonte de Variação	G.L	S.Q	Valor F	P
Tratamento	21	498.7625	292.859	.0000
Resíduo	102	3.568359		

C.V= 4.136