

Penicilina e cavalinha no controle alternativo da ferrugem asiática da soja

Samara Patrycia Trés¹, Clair Aparecida Viecelli¹, Beatriz Renata vegutz¹ Talita Cristina Maffei da Rosa¹

¹Faculdade Assis Gurgacz – FAG, Curso de Agronomia, Avenida das Torres n. 500, CEP: 85.806-095, Bairro Santa Cruz, Cascavel, PR.

samarapatrycia@hotmail.com, clair@fag.edu.br, biavergutz@gmail.com, talita.maffei@bol.com.br

Resumo: A soja é uma cultura de grande importância econômica, mas tem seu potencial produtivo prejudicado pela incidência do fungo *Phakopsora pachyrhizi*, responsável pela ferrugem asiática da soja, que apresenta alto grau de severidade. Com o objetivo de encontrar métodos alternativos para o controle desse fungo, realizou-se testes *in vitro* no laboratório de fitopatologia da Faculdade Assis Gurgacz. Submeteu-se o patógeno ao extrato de penicilina e cavalinha. No primeiro avaliou a germinação dos esporos tendo-se vertido, em meio de cultura, soluções de esporos de *P. pachyrhizi*, nas concentrações de 0, 5, 10, 15 e 20%, originadas de diferentes partes da planta (raiz, caule, folha e planta inteira). Já para o segundo tratamento substituiu-se a penicilina pela cavalinha, seguindo os mesmos procedimentos, utilizando única solução elaborada a partir da planta inteira. As mesmas foram avaliadas conforme o potencial germinativo do esporo considerando a sequência de 100 esporos por lâmina. As maiores concentrações dos extratos obtidos da planta inteira de penicilina e cavalinha apresentam potenciais para serem testadas a campo, considerando a possibilidade de indução de resistência em soja.

Palavras-chave: *Phakopsora pachyrhizi*. *Alternanthera brasilian* L., *Equisetum arvense* L.

Penicillin and Horsetail an alternative control Asian soybean rust

Abstract: Soybean is a crop of great economic importance, but has its production potential damaged by the pathogen *Phakopsora pachyrhizi*, in charge of Asian soybean rust, which has a high degree of severity. With the goal of finding alternative methods to control this fungus was held *in vitro* in the laboratory of Plant Pathology, Faculty Gurgacz Assisi. Submitted the pathogen to penicillin and horsetail extract. At first evaluated the germination of spores having been leaked in the culture medium, solutions of spores of *P. pachyrhizi*, the concentrations of 0, 5, 10, 15 and 20%, originated from different plant parts (root, stem, leaf and whole plant). As for the second treatment is substituted for penicillin for mackerel, following the same procedures, using only solution prepared from the whole plant. They were evaluated according to the germination of spores considering the sequence of 100 spores per slide. The highest concentrations of extracts whole plant of penicillin and mackerel have potential to be field-tested, considering the possibility of induced resistance in soybean.

Key words: *Phakopsora pachyrhizi*. *Alternanthera brasilian* L., *Equisetum arvense* L.

Introdução

Dentre as espécies produtoras de grãos, cultivadas no Brasil, a soja (*Glycine max* L. Merrill) é considerada uma das culturas de maior potencial econômico para a comercialização interna e externa, estando o Brasil como segundo maior produtor mundial. É também uma das

mais importantes oleaginosas do mundo (Ávila *et al.*, 2008). Conhecendo a importância desta cultura a nível econômico e sabendo que para a planta atingir o seu potencial produtivo enfrenta diversidades de doença antes mesmo de chegar a seu ciclo final. No qual a doença está entre os fatores limitantes mais importantes e difíceis de controlar (Pirani, 2005).

Dentre as doenças de importância estão as fúngicas, na qual se encaixa de grande relevância na agricultura brasileira a ferrugem asiática da soja, causada pelo fungo *Phakopsora pachyrhizi*, em razão das reduções de produtividade e dos gastos com medidas de controle, considerando-se a importância da cultura da soja para o País (Soares *et al.* 2008).

Avaliando os danos desta doença, alguns aspectos relativos ao fungo e seu controle, nota-se que ainda carecem de informações detalhadas, fazendo necessários estudos com possíveis tratamentos capazes de controlar a germinação e posterior esporulação do fungo. Assim evitando o uso indiscriminado de agrotóxicos que ocasionam danos ao ambiente, levando ao desequilíbrio ambiental e a seleção de populações do fungo resistentes aos fungicidas (Ghini e Kimati, 2000). Além da contaminação de alimentos, intoxicação de homens e animais e surgimento de algumas pragas e doenças, antes consideradas secundárias (Meinerz *et al.*, 2008). Em função destes fatores, a procura por produtos alternativos que sirvam como defensivos e causem menores danos ao ambiente tem crescido, sejam estes químicos, biológicos, orgânicos ou naturais (Médice *et al.* 2007).

As plantas contêm várias substâncias que agem sobre os organismos vivos, os chamados princípios ativos. Substâncias estas que dão origem aos metabólitos primários e secundários, onde na maioria das vezes a junção destes metabólitos resulta no efeito benéfico desejado. No quais vários autores acreditam serem estas estratégias a alternativa para sobrevivência da planta ao patógenos (Paula e Clemente, 2003).

De forma geral as plantas, possuem várias componentes que podem ser usado no combate a doenças fúngicas, bacteriana e viroses. Um exemplo é os peptídeos obtidos dos vegetais, que possuem atividades antimicrobianas capazes de combater ou minimizar os impactos das infecções. Devido aos peptídeos básicos (arginina, lisina e cisteína) conter enxofre que apresentam efeitos tóxicos contra fungos. Qual atinge a célula microbiana de forma rápida, resultando em uma diminuição de resistência do patógeno (Quintão, 2009).

Sendo que a utilização de plantas medicinais tem mostrado resultados promissores no controle de patógenos de plantas (Guiraldo *et al.* 2004). Onde as propriedades antimicrobianas de substâncias extraídas de plantas são comprovadas pela ciência no controle do crescimento de microorganismos relatados por (Pessini *et al.*, 2003).

Desta forma o objetivo do trabalho foi utilizar plantas medicinais *Alternanthera Brasilian* L. e *Equisetum arvense* L., sabendo que a penicilina possui muitos esteróides, flavonóide e presença de batalaínas e terpenos importantíssimo na defesa da planta sob a ação microorganismos. No qual os estudos demonstram que *A. brasiliiana* apresenta atividade “*in vitro*” contra vários patógenos (Luca *et al.*, 2001). Já a *E. arvense* L. é conhecida como uma das plantas com maior acúmulo de silício (sílica biogênica), além disso, possui em sua composição: sais minerais, potássio, magnésio, cálcio, fósforo, sódio, flúor e alumínio, apresentando, mais de 10% de constituintes inorgânicos e compostos fenólicos, flavonóides, entre outros (Silva e Carmo, 2009).

Para que as atividades destes princípios ativos existente nas plantas sejam mantidas é importante saber que estes são influenciados pela idade e desenvolvimento da planta, bem como as diferentes partes utilizadas dos vegetais. As quais influenciaram na quantidade de metabólitos e também as proporções relativas dos componentes da mistura (Paula e Clemente, 2003).

Conhecendo estas características medicinais apontada pelas plantas realizou-se o trabalho com o intuito de obter resultado no controle da *P. pachyrhizi*, assim possibilitando estudos mais aprofundados para a indicação devido à viabilidade ou não das ervas no controle da ferrugem asiática.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de Análise de Fitopatologia da Faculdade Assis Gurgacz (FAG), Cascavel, Pr. Avaliou-se o efeito das plantas *A. Brasílian* e *E. arvense* na germinação de uredosporos de *P. pachyrhizi*, em laboratório, que foram comparados e realizados os seguintes procedimentos.

No primeiro experimento foi retirada a planta penicilina da casa de vegetação e após a desinfecção com água destilada foram separadas por parte atingindo o peso 20g para cada, sendo constituídas as partes por: Raiz, caule, folha e planta inteira. Separado em um Becker cada parte recebeu 100 ml de água para composição da solução, que ficou armazenada por 24h em geladeira a temperatura 5°C. Após o intervalo mencionado foi preparado para cada solução às dosagens 5%, 10%, 15% e 20%, diluindo-se com água destilada.

Para o teste de germinação de esporos foram preparadas 20 caixas de gerbox, com papel filtro ao fundo que recebeu 10 ml de água destilada, em cima do papel foram colocados palitos de madeira que serviram de suporte as três lâminas cobertas com meio de cultura ágar-água a 1%, aferido a cada lâmina 1000µl do meio. Sobre o Agar-água adicionou-se 40 µL da

suspensão de esporos e 40 μL dos tratamentos e/ou água para a testemunha. Cada caixa possuía três repetições para cada tratamento.

Para o ensaio, foram coletados esporos em folhas de plantas infectadas a campo, as folhas foram raspadas com pincel sobre água destilada, com adição de 0,1 mL L^{-1} de Tween 20. Com auxílio da câmara de Newbauer realizou-se a contagem dos esporos até obter a concentração de 4×10^4 esporos mL^{-1} .

O experimento foi mantido em BOD a 22°C por 24h e após esse período realizou-se a avaliação da percentagem de germinação, considerando a sequência de 100 esporos por lâmina.

No segundo experimento realizado com a cavalinha, obteve-se o mesmo interesse do trabalho anterior em visualizar os resultados obtidos como método de controle alternativo da ferrugem. No entanto utilizou-se partes de toda a planta para a formulação de uma única solução, atingindo o peso de 20 g, o qual também recebeu 100 mL de água e ficou armazenado na geladeira a 5°C por um intervalo de 24h, sendo separados em dosagens 5%, 10%, 15% e 20%, diluindo-se com água destilada. Sendo preparados para o teste de germinação dos esporos 5 caixas de gerbox, cada caixa contendo três repetições, seguindo os mesmos procedimentos já descrito anteriormente.

Os demais procedimentos desde a preparação do Agar-água, contaminação do meio de cultura por esporos de *Phakopsora pachyrhizi*, aplicação da solução de cavalinha em dosagens determinadas, testemunha com aplicação de água destilada na mesma dosagem do controle alternativo, armazenagem e a avaliação seguiram os métodos já descritos acima aos tratamentos com penicilina.

Ambos os tratamentos foram conduzido no delineamento inteiramente casualizado com três repetições. As análises estatísticas dos dados foram analisadas com o auxílio do programa estatístico SISVAR. As médias foram transformadas por raiz de $x+0,5$ e comparadas pelo teste de tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

Conforme a tabela 1, nota-se que os tratamentos obtiveram diferentes respostas em inibir o fungo, quando a solução foi realizada a partir da secção de diferentes partes da planta. Segundo (EMBRAPA, 2002), considera-se importante o modo de preparo e a concentração da aplicação para possível controle e eficiência na mortalidade.

Tabela 1: Percentual de germinação do fungo *P. pachyrhizi* em função das doses dos tratamentos de penicilina.

Tratamento	Dose	Médias
Folha	0%	20.6 a
	5%	60.6 b
	10%	34.6 a
	15%	58.6 b
	20%	29.3 a
Caule	0%	14.6 a
	5%	68.0 c
	10%	32.3 b
	15%	68.3 c
	20%	58.3 c
Raiz	0%	18.6 a
	5%	60.6 b
	10%	67.6 b
	15%	65.0 b
	20%	55.3 b
Planta inteira	0%	20.6 a
	5%	57.6 b
	10%	39.3 ab
	15%	25.6 a
	20%	24.3 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula para coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Analisando a tabela 01, nota-se que os tratamentos mantiveram um padrão de resposta nas diferentes partes vegetais, sendo que nenhum obteve resultado satisfatório quanto à inibição do fungo. No qual as concentrações de caule e raiz foram inferiores aos resultados apresentado pelo controle, sendo descartada continuação de estudos para estas soluções.

Já os tratamentos com folha, na concentração 10% e 20% apresentaram resultados que possibilitam ser levado a campo. Pois conhecendo a característica da doença e sabendo que a mesma é biotrófica deve-se analisar o residual a um período mais longo para observar o comportamento da mesma, não sendo mais limitada pelo estudo em laboratório. O tratamento realizado com a planta inteira, para as concentrações 15% e 20% demonstraram o mesmo resultado citado para a parte aérea folha, nas concentrações de melhor resultado.

Para Carvalho *et al.* (2008), que também não conseguiu controlar o crescimento do fungo *Curvularia eragrostidis* *in vitro* através de extrato obtido de plantas medicinais, menciona que a ausência de inibição do crescimento do fungo por extratos de plantas seja ela rica em taninos ou outros componentes, indica que o mesmo também é capaz de desenvolver

adaptações bioquímicas ou defesas contra essas substâncias polifenólicas, possibilitando o seu estabelecimento e posterior desenvolvimento.

No entanto aplicar extratos que estimulam o desenvolvimento de fungos benéficos pode ser uma alternativa de controle. Como por exemplo, para Pomella e Ribeiro (2009), que se utiliza do fungo *Trichoderma* sp., que são eficientes na redução de doença ocasionadas por patógenos habitantes do solo. Pois quando utilizado no tratamento de sementes, inativou os escleródios que produziram esporos para infectar o hospedeiro. Assim controlando o mofo branco no feijão, soja e algodão reduzindo o número de aplicações de fungicidas.

Tabela 2: Percentual de germinação do fungo *P. pachyrhizi* em função das doses dos tratamentos de cavalinha.

Tratamento	Dose	Médias
Planta inteira	0%	31.3 a
	5%	51.3 b
	10%	25.3 a
	15%	34.0 a
	20%	24.3 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula para coluna, não diferem entre si a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Avaliando a tabela 02, nota-se que a cavalinha nas concentrações de 10%, 15% e 20% obteve resultados não significativos quando comparados ao controle. Ou seja, é relevante levar o estudo a casa de vegetação, para que em condições biotróficas o fungo desenvolva-se e demonstre o real potencial de controle destas concentrações.

A concentração de 5% não se demonstrou eficiente descartando a continuação dos estudos nesta dose devido o estímulo significativo a germinação dos esporos.

Para Rossi *et al.* (2008), que utilizou quatro substratos para o teste de germinação do fungo biotrófico *Asperisporium caricae*, agente casual da pinta-preta do mamoeiro, ressalta que para a avaliação do residual a longo prazo, para fungos que necessitam do hospedeiro, a avaliação adequada seria em casa de vegetação.

Conclusão

Os extratos de penicilina e cavalinha são potenciais para serem testados a campo, porém algumas concentrações estimularam a germinação dos esporos de ferrugem asiática da soja, não sendo recomendada sua utilização.

Referências

- ÁVILA, W; PERIN, A.; GUARESCHI, R.F.; GAZOLLA, P.R. Influência do tamanho da semente na produtividade de variedade de soja (*Glycine max* L. Merrill). **Agrarian**, v.1, n.2, p.83-89, 2008.
- CARVALHO, A.R.; LACERDA, J.T.; OLIVEIRA, E.F.; SANTOS, E.S. **Extratos de Plantas Medicinais como Estratégia para o Controle de Doenças Fúngicas do Inhame (*Dioscorea* sp.) no Nordeste**. Vol. 1. av 107- 2008. EMEPA.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J.L.V.; LIMA, A.P.; ARGOLO, V.M. Avaliação de plantas com potencial inseticida no controle da vaquinha-do-feijoeira (*Cerotoma tingomarianu* Bechyné). Boletim de pesquisa e desenvolvimento n.37, p.34. Novembro,2002.Rio Branco AC - EMBRAPA
- GUIRALDO, N.; AMBROSANO, E.J.; MENDES, P.C.D.; ROSSI, F.; AVÉRALO, R.A. **Controle de doenças em sistema agroecológicos**. Botucatu,SP. v.30, n. 1, p. 153-156, 2004.
- GHINI, R.; KIMATI, H. Resistência de fungos a fungicidas. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2000. 78p
- LUCA, R.L.; MACEDO, A.F.; CECHINEL, V.F.; EQUIBEL, L.M.A. Ação de diferentes faixas de espectro luminoso na otimização da produção de *Alternanthera brasiliana* L. uma planta medicinal. UFRJ. Programa de biotecnologia vegetal. 2001.
- MÉDICE, R.; ALVES, E.; ASSIS, R.T.; GOULART, R.M.J.; LOPES, E.A.G.L. Óleos essenciais no controle da Ferrugem Asiática da soja. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n.1 p. 89-90, jan/fev., 2007.
- MEINERZ, C.C. ; FORMIGHIERI, A.P. ; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. ; DIETERICH, C. ; FRANZENER, G.; STANGARLIN, J.R. Atividade elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por derivados de aveia (*Adiantumcapillus-veneris* L.) **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.10, n.2, p.26-31, 2008.
- PESSINI, G.L.; HOLETZ, F.B.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; DIAS FILHO, B.P.; NAKAMURA, C.V. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizadas na medicina popular. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, supl., p. 21-24, 2003.
- PIRANI, B.F. Análise do comportamento e controle da ferrugem asiática na cultura da soja no Brasil referente ao período de 2004/2005. **Anais** do XI simpósio de Ciências Aplicadas da FAEF. Graça/ SP. Volume 2 (4 vols.). ACEG. p. 61.
- POMELLA, A. W.V.; RIBEIRO, R.T.S. **Controle biológico com trichodema em grandes culturas- uma visão empresarial**. Livro digital: Biocontrole de Doença de Plantas. Jaguariúna, SP. 2009 p. 240-243. EMBRAPA.
- PAULA, A.C.; CLEMENTE F.F. Plantas medicinais: utilização popular e diversidade química para indústria. Lavras:UFLA/FAEPE. 2003

QUINTÃO C.C.R. **Avaliação in vitro da atividade antimicrobiana e citotoxicidade de substâncias naturais frente a microrganismos causadores de mastite bovina.** Tese de Mestrado em ciências Biológicas.- UFJF. Juiz de Fora, MG, 2009.

ROSSI, D.A.; COSTA, A.F; ROSSI, D. F.; ENTRINGER, C.; DAHER, R.F.D.; SILVEIRA, S.F. **Germinação in vitro de conídios de *asperisporium caricae*(Speg) Maubl. Agente casual da pinta- preta do mamoeiro (*Carica papaya* L.)** XX Congresso Brasileiro de Fruticultura Vitória/ES, 2008.

SILVA, W.S.; CARMO, D.R. Comprtamento voltamétrico do ácido ascórbico em presença da erva *Equisetum arvense*. **Anais.** In: XXI - Congresso de Iniciação Científica da UNESP p.04486-04489. - 2009

SOARES, R.M.; GAZZIERO, D.L.P.; MORITA,D.A.S.; CILIATO, M.L.; FLAUSINO, A.M.; SANTOS,L.C.M.; JANEGITZ, T. Utilização de glifosato para o controle de ferrugem da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.43, n.4, p.473-477, 2008.

Recebido em: 23/11/2010

Aceito para publicação em: 01/12/2010