

Germinação de esporos de *Puccinia polysora* por extratos aquosos de *Mikania glomerata*

CARVALHO, J.C.^{1*}, VIECELLI, C.A.², CALIXTO, L.B.¹, BARBIERI, L.D.¹, SILVA, A.C.¹.

¹Acadêmicos de Agronomia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR, Av. da União 500, Bairro Jardim Coopagro, CEP 85902 532, Toledo/PR. E-mail: maninho_biz@hotmail.com. *Autor para correspondência

²Docente da Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUCPR. E-mail: clair.viecelli@pucpr.br

RESUMO

A ferrugem polisora do milho possui como principal método de controle os fungicidas químicos. Esta pesquisa visou avaliar a germinação dos esporos do fungo *Puccinia polysora*, responsável pela ferrugem do milho, com extrato aquoso estático de guaco (*Mikania glomerata*). O extrato de guaco foi obtido por meio da hidratação das folhas inteiras em água destilada e mantido na geladeira por 24 horas. Em seguida, filtrou-se com papel filtro e diluiu-se em água até atingir as concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5%. A testemunha foi representada com água destilada. Alíquotas de 40 µL do extrato e 40 µL da suspensão de esporos de *P. polysora* (1×10^4 esporos mL⁻¹) obtidas em uma lavoura comercial da cidade de Toledo (PR), foram distribuídas sobre a superfície da lâmina de microscopia revestida por fina camada (1 mL) de ágar-água a 1% e acondicionadas em caixas de gerbox no escuro por 24 horas em temperatura de 22 °C. Posteriormente, determinou-se a porcentagem de esporos germinados por contagem em microscópio. Os resultados foram analisados pela ANOVA e pelo teste de regressão e indicaram que todas as concentrações inibiram a germinação de esporos, atingindo 74% na maior concentração testada, quando comparada a testemunha.

Palavras-chave: Ferrugem polisora, guaco, milho, planta medicinal.

ABSTRACT

Germination of *Puccinia polysora* spores through aqueous extracts of *Mikania glomerata*

Corn rust requires chemical fungicides as the main method for its control. This research aimed to evaluate the spore germination of the fungus *Puccinia polysora*, responsible for corn rust, using static aqueous extract of guaco (*Mikania glomerata*). The extract was obtained by hydrating whole leaves of guaco in distilled water and then it was kept in the refrigerator for 24 hours. Afterwards, the extract was filtered with filter paper and diluted in water until it reached the concentrations of 1, 2, 3, 4 and 5%. The control was prepared with distilled water. Aliquots of 40 µL of the extract and 40 µL of spore suspension of *P. polysora* (1×10^4 spores mL⁻¹), obtained in a commercial farming area in Toledo (Paraná, Brazil), were spread over the surface of a microscope slide covered with a thin layer (1 mL) of water agar at 1%, placed in gerbox boxes and kept in the dark for 24 hours at 22 °C. Later, the percentage of germinated spores was determined by counting them under the microscope. The results were analyzed by ANOVA and regression test, and they indicated that all the concentrations inhibited the germination of spores, reaching 74% in the highest concentration tested, when compared to the control.

Keywords: polysora rust, guaco, corn, medicinal plant.

INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é uma gramínea que pertence a família Poacea, originada do Teosinto (SCHIPANSKI, 2011). O milho é o cereal mais produzido no mundo, segundo o departamento de agricultura dos Estados Unidos (USDA), com uma produção média de 778,8 milhões de toneladas em uma área de 161,9 milhões de hectares (DEMARCHI, 2011). O Brasil produz 63,2 milhões de toneladas e uma área de plantio de 14,7 milhões de ha (IBGE 2012). A importância econômica está em sua diversidade de utilização. É usado na alimentação animal, humana e até em indústrias de alta tecnologia, sendo 70% do volume total utilizado para a alimentação de aves, bovinos e suínos (DEMARCHI, 2011).

O milho sempre foi considerado uma planta rústica, capaz de suportar vários estresses ambientais, mas com a expansão das fronteiras agrícolas e com a ampliação das épocas de cultivo, esta realidade mudou. Plantios antecipados sob irrigação, plantio de safra de verão e o aumento do plantio safrinha são responsáveis pela continuidade temporal da cultura do milho, o que proporciona, a cada ano, o surgimento de novos problemas para cultura, principalmente com relação às doenças. Para o sucesso da cultura, do ponto de vista fitossanitário, é importante que as causas condicionais de tais doenças sejam identificadas e estudadas como parte de um processo evolutivo da própria agricultura (PEREIRA *et al.*, 2005).

As doenças podem causar danos pré e pós-colheita, podendo ser de quantidade ou qualidade do produto, ocasionado também pelo alto custo de controle químico, ou por implantação de variedades resistentes e caras gerando menor lucro ao produtor (BERGAMIM FILHO *et al.*, 2011).

A ferrugem polissora é a mais agressiva e destrutiva das doenças do milho na região central do Brasil. Já foram encontrados danos de 65% em experimentos, e na década de 90 várias epidemias desta doença causaram danos consideráveis à cultura, enquanto que nas regiões do Centro-Oeste e Sudeste esta doença pode ocorrer durante todo ano agrícola. A *P. polysora* desenvolve melhor em temperaturas mais elevadas e tem pouca exigência de umidade para germinar de seus esporos. É causada pelo fungo *P. polysora*, cujos sintomas são pústulas pequenas, circulares e elípticas. Os uredósporos e pústulas tem coloração variável de amarelo a dourado; em fases mais avançadas as pústulas tornam-se marrons escuras devido a formação de teliosporos, podendo ocorrer na face do limbo e da bainha foliar, nas brácteas das espigas e, em condições de alta severidade, no pendão, podendo ocasionar a morte da planta em virtude da destruição foliar (PEREIRA *et al.*, 2005).

O desenvolvimento da ferrugem polissora é favorecido por condições de alta umidade relativa e temperaturas na faixa de 23 a 28 °C. A doença ocorre com maior severidade quando são realizadas semeaduras tardias, entre a segunda quinzena de novembro e a primeira de dezembro, em regiões de altitude abaixo de 800 m (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

Deve-se considerar que aproximadamente metade das lavouras de milho safrinha são semeadas fora do período recomendado para a cultura, aumentando o período de estresse e tornando as plantas mais debilitadas. No outono-inverno a disponibilidade de calor é menor, alongando o ciclo até a maturação fisiológica, e a perda de umidade dos grãos é mais lenta, resultando em quase um mês de atraso para o início da colheita. Esse fato juntamente com os estresses fisiológicos, requer uma maior atenção com a resistência a doenças. Esses problemas tem sido notados com maior frequência quando ocorre seca ou geada durante a maturação dos grãos. Os autores também citam a importância na escolha de cultivares, devendo-se utilizar sementes de materiais reconhecidamente resistentes às doenças que ocorrem em cada região (OLIVEIRA *et al.*, 2004).

O controle principal da ferrugem é a utilização de cultivares resistentes, época e local de plantio, e aplicação de fungicidas. O controle químico é eficiente no controle da doença, porém somente em matérias que apresentam um alto valor econômico ou estratégico (PEREIRA *et al.*, 2005).

Apesar da disponibilidade de materiais resistentes e de fungicidas eficientes, as ferrugens continuam causando sensíveis reduções na produção de alimentos em todo mundo (BERGAMIN FILHO *et al.*, 2011).

Em trabalhos desenvolvidos com extrato bruto ou óleo essencial de plantas medicinais da flora nativa tem-se verificado potencial dos mesmos para o controle de fitopatógenos, por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento de micélio e a germinação de esporos (SCHWAN-ESTRADA *et al.*, 2000).

Esta pesquisa visou avaliar a germinação dos esporos do fungo *P. polysora*, responsável pela ferrugem polisoro do milho, com as concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% do extrato aquoso estático de guaco (*M. glomerata*).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Fitopatologia da PUC-PR, localizado em Toledo/PR. Os esporos de *P. polysora* foram coletados em maio de 2012 de uma lavoura comercial da cidade de Toledo/PR (coordenadas: latitude -24° 41' 54.37" e longitude -53° 38' 55.99", com altitude de 560 metros). As folhar com os sintomas da doença foram encaminhadas para o laboratório onde se realizou a raspagem dos esporos com pincel, em Becker com água destilada e adicionado 40 µL de suspensão emulsionável, para obter a suspensão dos esporos para realizar o experimento.

O extrato de guaco foi obtido por meio da hidratação das folhas inteiras em 100 mL de água destilada e, posteriormente, vedado com papel filme e mantido na geladeira por 24 horas em temperatura de 5 °C. Após filtrou-se o extrato com papel filtro para retirar as folhar e dilui-se em água destilada até atingir as concentrações desejadas de 1, 2, 3, 4 e 5%. A testemunha foi representada apenas por água destilada. Foram adicionadas alíquotas de 40 µL do extrato e 40 µL da suspensão de esporos de *P. polysora* (1×10^4 esporos mL⁻¹) sobre a superfície da lâmina de microscopia revestida por fina camada (1 mL) de ágar-água a 1%, as quais foram acondicionadas três lâminas em cada caixa de gerbox com papel filtro umedecido, armazenado no escuro por 24 horas em temperatura de 22 °C.

Após determinou-se a porcentagem de esporos germinados por contagem aleatória dos 100 primeiros esporos encontrados na lâmina, em microscópio. Os resultados foram analisados pela ANAVA e teste de regressão através do programa SISVAR.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram analisados pela ANAVA e indicam que todas as concentrações inibiram a germinação de esporos, apresentando valores de 43,3; 61,3; 34,6; 68,6 e 73,3% nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% respectivamente, quando comparada a testemunha. A regressão apresentou-se de forma linear decrescente, sendo que o resultado mais significativo foi a maior concentração do extrato (Figura 1).

O potencial do guaco no controle de fitopatógenos também é relatado por Vigo-Schultz *et al.* (2006) utilizando tintura etanólica no controle da podridão mole, onde os autores obtiveram 24 e 38% de inibição do crescimento bacteriano de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* da cultura do couve-flor nas concentrações de 100 a 500 mg L⁻¹, respectivamente.

O guaco demonstrou potencial em inibir o crescimento micelial do fungo *Pleurotus ostreatus* "florida", em concentrações de 1 e 10% do extrato bruto, mostrando diferenças significativas comparando com a testemunha e com o extrato de mil-folhas (*Achillea millefolium* L.), relatado por Murilho *et al.* (2009).

Os resultados de extrato de plantas tem demonstrado potencial interessante, no controle alternativo de fitopatógenos, por não polui o meio ambiente, por ser um produto natural, conforme relatado por Silva *et al.* (2012) que, testando o extrato aquoso de *Amaranthus hybridus* var. *patulus* (caruru) sobre *P. polysora*, obtiveram resultados de inibição da germinação dos esporos de 9,4; 20; 12; 15,3 e 29,3% nas concentrações de 1, 2, 3, 4 e 5% respectivamente.

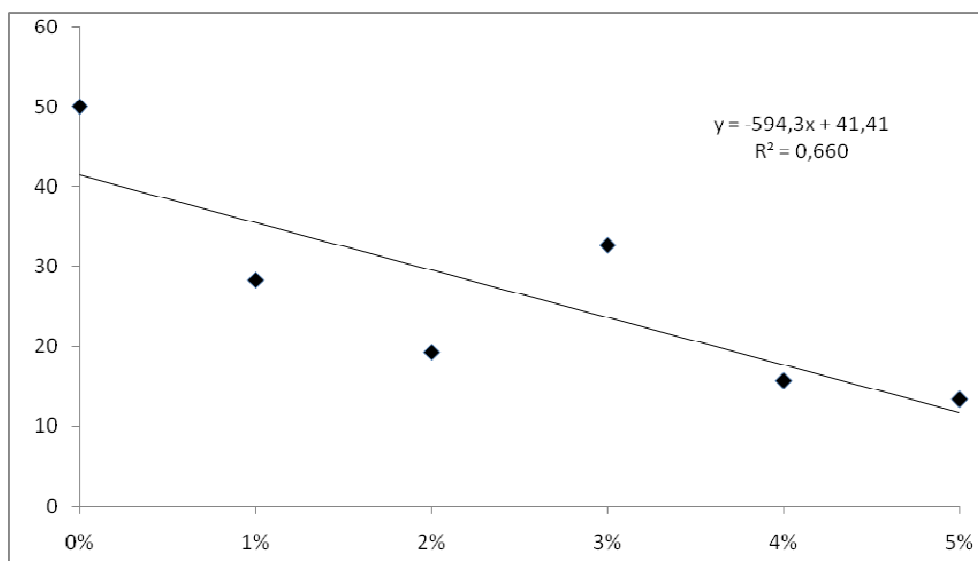


Figura 1 - Germinação de esporos de *Puccinia polysora* em presença de extrato aquoso de guaco (*Mikania glomerata*).

Em outro trabalho realizado com o extrato de cúrcuma no controle da pinta preta do tomateiro, Franzener *et al.* (2009) relataram a redução dos custos de produção com a utilização do extrato no controle da doença quando comparado com produtos comerciais.

Extratos de cogumelos como *Agaricus blazei* são relatados com potencial na indução de resistência das plantas a doenças, conforme Ueda *et al.* (2008), os quais testaram no crescimento, germinação e esporulação *in vitro* de *Corynespora cassiicola* e também na indução da enzima peroxidase em pepino "japonês". Os autores não encontraram nenhuma diferença significativa sobre o fungo, mas demonstraram resultados significativos na atividade de peroxidase.

Avalia-se com os resultados obtidos e com dados da literatura, a possibilidade de explorar extratos de plantas e cogumelos para minimizar a severidade das doenças e reduzir danos ecológicos ou ambientais pelo uso de produtos naturais.

CONCLUSÕES

Conclui-se com esta pesquisa, que a inibição da germinação dos esporos da *P. polysora* com extrato de guaco foi significativa, com possibilidade de explorar o mesmo no controle da doença em pesquisas em casa de vegetação e a campo.

AGRADECIMENTOS

À Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR, *Campus Toledo/PR*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGAMIN FILHO A.; AMORIM L.; REZENDE J.A.M., Importância das doenças de plantas In: AMORIM L.; REZENDE J.A.M.; BERGAMIM FILHO, A. **Manual de fitopatologia**. 4. ed. São Paulo: Ceres, p.19-36, 2011.
- DEMARCHI M., Análise da conjuntura agropecuária safra 2011/12. **Estado do Paraná Secretaria da Agricultura e do Abastecimento Departamento de Economia Rural**. p.1, 2011.
- FRANZENER, G.; BALBI-PEÑA, M.I.; ASSI, L.; STANGARLIN, J.R.; PORTZ, R.L. Controle da pinta preta do tomateiro pelo extrato de cúrcuma: um estudo de caso sobre a sustentabilidade.

Scientia Agraria Paranaensis, UNIOESTE: Marechal Candido Rondon/PR, v.8, n.1-2, p.99-112, 2009.

Levantamento Sistemático da produção agrícola. **Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE**. Rio de Janeiro. p.11-12, 2012.

MURILHO J.M., DE FARIA S.L., ROSADO F.R., Efeitos dos extratos de guaco (*Mikania glomerata* S.) e mil-folhas (*Achillea millefolium* L.) sobre o crescimento de *Pleurotus ostreatus* “Florida” em cultura submersa. Iniciação Científica CESUMAR. **Scientia Agraria Paranaensis**, UNIOESTE: Marechal Candido Rondon/PR, v.11, n.1, p.15-22, 2009.

OLIVEIRA E., FERNANDES F.T., CASELA C.R., PINTO N.F.J.A., FERREIRA A.S. Diagnose e controle de doenças na cultura do milho In: GALVÃO J.C.C., MIRANDA G.V., **Tecnologia de produção do milho**, Viçosa: UFV, p.128-238, 2004.

PEREIRA O.A.P, DE CARVALHO R.V., CAMARGO L.E.A., Doenças do milho (*Zea mays*). In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J.A.M.(Eds). **Manual de Fitopatologia**. Volume 2: Doenças das plantas cultivadas. 4ª edição. São Paulo: Ceres, 479 p., 2005.

SCHIPANSKI A.C. **Tratamento de sementes de milho com fungicidas e indutor de resistência e pulverização foliar para o controle da ferrugem comum do milho (*Puccinia sorghi* Schw)**. Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia. Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Mestrado. Universidade Estadual De Ponta Grossa UEPG. Ponta Grossa. 73p. 2011.

SCHWAN-ESTRADA K. R. F., STANGARLIN J.R., CRUZ M. E. S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista Floresta** v.30, p.131, 2000.

SILVA A.C. DA, VIECELLI C.A., CARVALHO J.C., CALIXTO L.B., BARBIERI L.D. Inibição *in vitro* de germinação de esporos de *Puccinia polysora* por extrato aquoso de *Amaranthus hybridus* var. *patulus*. In: VI SECIAGRA – CONGRESSO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS DA UNIOESTE, 1. 2012, Marechal Cândido Rondon/PR, **Anais...** Marechal Candido Rondon/PR, 2012.

UEDA, M., SCHWAN-ESTRADA, K.R.F., ITAKO, A.T., OLIVEIRA, R.R., AGUIAR, B.M., Extrato etanólico obtido do composto exaurido de *Agaricus blazei* no crescimento, esporulação e germinação *in vitro* de *Corynespora cassicola* e na indução da enzima peroxidase em plantas de pepino “japonês”. **Scientia Agraria Paranaensis**, UNIOESTE: Marechal Candido Rondon/PR, v.7, n.1-2, p.65-73, 2008.

VIGO-SCHULTZ, S.C.; STANGARLIN, J.R.; FRANZENER, G.; PORTZ, R.L.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Avaliação da eficácia da tintura etanólica de guaco (*Mikania glomerata*) no controle da podridão negra (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) em couve-flor. **Semina: Ciências Agrárias**, v.27, n.4, p.515-524, 2006.