

UNIOESTE
UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
NÍVEL MESTRADO

ANDREA BECKER

CONTROLE DE DOENÇAS DE FINAL DE CICLO E OÍDIO DA SOJA
POR EXTRATOS AQUOSOS DE *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus*
***officinalis* E *Curcuma longa* E SOLUÇÃO DE CURCUMINA**

MARECHAL CÂNDIDO RONDON
AGOSTO/2005

ANDREA BECKER

**CONTROLE DE DOENÇAS DE FINAL DE CICLO E OÍDIO DA SOJA
POR EXTRATOS AQUOSOS DE *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus
officinalis* E *Cúrcuma longa* E SOLUÇÃO DE CURCUMINA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Nível Mestrado, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Renato Stangarlin

MARECHAL CÂNDIDO RONDON

AGOSTO/2005

AGRADECIMENTO

Agradeço a DEUS pelo dom da vida, coragem e força constantes, imprescindíveis para a realização deste trabalho.

À Natureza, que é fonte inspiradora dos grandes questionamentos da humanidade.

Ao professor e orientador Dr. José Renato Stangarlin, por acreditar no trabalho, não mensurando esforços para sua realização, pela sua dedicação e virtudes que o tornam uma pessoa extraordinária.

À minha família pelo amor, dedicação inigualável e apoio que me proporcionaram durante esta etapa da minha vida acadêmica.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, em especial ao Centro de Ciências Agrárias pela oportunidade o mestrado.

À CAPES – Coordenadoria de Aperfeiçoamento de Pessoal do Ensino Superior, pela concessão da bolsa.

As amigas Maria Isabel Balbi Pena, Celestina Klahold e Sandra Vigo Schultz pelo incondicional auxílio na condução do experimento *in vivo*.

Às alunas da Graduação Bárbara e Luciana pelo auxílio das tarefas realizadas no Laboratório de Fitopatologia

À todos os professores da UNIOESTE que colaboraram no realização desse trabalho.

Obrigada

SUMÁRIO

FIGURA 1.....	Erro! Indicador não definido.
FIGURA 2.....	Erro! Indicador não definido.
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 A cultura da soja.....	3
2.2 Doenças na cultura da soja	3
2.2.1 Mancha parda ou septoriose	4
2.2.2 Crestamento foliar de Cercospora e mancha púrpura da semente	5
2.2.3 Oídio.....	7
2.3 Controle de doenças	8
2.4 Controle alternativo	9
2.5 Alecrim (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	11
2.6 Capim limão (<i>Cymbopogon citratus</i>)	12
2.7 Cúrcuma (<i>Curcuma longa</i>)	13
2.8 Mecanismos de defesa da planta.....	16
2.8.1 Peroxidase	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	1
3.1 Plantas medicinais utilizadas.....	1
3.2 Experimento <i>in vitro</i>	1
3.2.1 Obtenção dos fungos fitopatogênicos	1
3.2.2 Obtenção do extrato bruto das plantas medicinais.....	2
3.2.3 Efeito do EB sobre o crescimento micelial de <i>C. kikuchii</i>	2
3.3 Experimento <i>in vivo</i>	3
3.3.1 Solo utilizado no experimento	4
3.3.2 Cultura e delineamento experimental.....	5
3.3.3 Implantação do experimento	5
3.3.4 Tratos culturais.....	6
3.3.5 Parâmetros avaliados.....	6

3.4 Dosagem de peroxidase.....	8
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	10
4.1 Experimento <i>in vitro</i>	10
4.2 Experimento <i>in vivo</i>	12
4.3 Dosagem de peroxidase.....	14
5 CONCLUSÃO	17
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Escala diagramática para avaliação de severidade de doenças de final de ciclo (DFC) na cultura da soja. Painel superior: sintomas agregados; painel inferior: sintomas distribuídos (Martins et al., 2004).....8
- Figura 2. Atividade de peroxidase (U.E. min⁻¹ grama de peso fresco⁻¹) em plantas de soja Cultivar CD 215 tratadas com extrato bruto aquoso de *C. citratus*, *R. officinalis* e *C. longa* e solução de curcumina, em condições de campo, no ano agrícola 2004/2005. **A)** *C. citratus*; **B)** *R. officinalis*; **C)** *C. longa*; **D)** solução de curcumina. Água (—◇—); Fungicida (piraclostrobin + epoxiconazol) (—+—); extratos aquosos a 5% (—x—) e 10 % (—▲—); solução de curcumina a 50 (—x—) e 100 mg L⁻¹ (—▲—)..... 16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tratamentos utilizados no ensaio de campo para controle de doenças de final de ciclo e oídio na cultura da soja, no município de Toledo/PR.	4
Tabela 2. Características químicas do solo utilizado no experimento de campo para controle de doenças de final de ciclo e oídio na cultura da soja, no município de Toledo/PR.	5
Tabela 3. Inibição do crescimento micelial (%) de <i>C. kikuchii</i> em presença de extrato bruto aquoso de <i>C. citratus</i> , <i>R. officinalis</i> e <i>C. longa</i> e solução de curcumina. Marechal Cândido Rondon/PR.....	11
Tabela 4. Controle de doenças de final de ciclo (DFC) (<i>C. kikuchii</i> e <i>S. glycines</i>) e oídio (<i>M. diffusa</i>) em plantas de soja cv CD 215 tratadas com extrato bruto aquoso de <i>C. citratus</i> , <i>R. officinalis</i> e <i>C. longa</i> e solução de Curcumina em condições de campo, ano agrícola 2004/2005. Toledo/PR.	13
Tabela 5. Atividade total de peroxidase em plantas de soja cv. CD 215 tratadas com extrato bruto aquoso de <i>Cymbopogon citratus</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i> e <i>Curcuma longa</i> e solução de curcumina em condições de campo, ano agrícola 2004/2005. Marechal Cândido Rondon/PR.....	14

RESUMO

CONTROLE DE DOENÇAS DE FINAL DE CICLO E OÍDIO DA SOJA POR EXTRATOS AQUOSOS DE *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus officinalis* E *Curcuma longa* E SOLUÇÃO DE CURCUMINA.

A ocorrência das doenças foliares de final de ciclo (DFC) causadas por *Septoria glycines* e *Cercospora kikuchii* e oídio causada por *Microsphaera difusa* em soja (*Glycine max*) são facilmente observadas no campo. Várias alternativas aos fungicidas têm sido avaliadas nos últimos anos na busca de produtos que controlem satisfatoriamente as doenças, que tenham pequeno impacto ambiental e baixa toxicidade aos seres humanos. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de extratos *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus officinalis* e *Curcuma longa* e solução de curcumina no controle de DFC e oídio. Foram realizados ensaios *in vitro* para verificar a atividade antimicrobiana desses extratos, através da análise do crescimento micelial em meio BDA bem como ensaios em condições de campo, com a cultivar de soja CD 215. O fungicida pyraclostrobin+epoxiconazole (0,6 L p.c. ha⁻¹) foi utilizado como tratamento controle. Os extratos de *C. citratus* foram os que mais inibiram o crescimento micelial de *C. kikuchii*, com valores de até 36,9% para concentrações a partir de 10% do extrato. Para *R. officinalis*, as inibições foram verificadas apenas a partir da concentração de 10% do extrato, alcançando o valor de 42,8% de inibição, para o extrato a 20%. *C. longa* foi a planta com menor atividade antimicrobiana, com inibição de apenas 17,9% para o extrato a 20%. Para a curcumina, soluções a partir de 200 mg L⁻¹, inibiram em média 15,1% o crescimento micelial *in vitro* do patógeno. Com relação aos ensaios de campo, verificou-se que a massa de 100 grãos do tratamento com *C. longa* (5%) foi superior à testemunha, porém igual a *C. citratus* (5%) e *R. officinalis* (5 e 10 %). Todos esses valores foram superiores ao tratamento com fungicida. Para a variável massa total o tratamento com *C. longa* (10%) obteve produtividade de 3856 kg ha⁻¹ mostrando também bom controle de DFC e oídio. Extrato de *R. officinalis* (5%) também proporcionou produção de grãos estatisticamente superior ao tratamento com fungicida. Nesses dois tratamentos a produção foi em média 15% superior àquela com produto químico. O melhor controle de DFC ocorreu nos tratamentos com *C. citratus* e *C. longa*, ambas a 5%, e com o fungicida. O melhor controle de oídio ocorreu com extratos de *C. citratus* e *R. officinalis* (5%), *C. longa* (5 e 10%) e fungicida. Os tratamentos com *C. longa* e *C. citratus* foram estatisticamente iguais ao fungicida. Para a atividade de peroxidase, *R. officinalis* e *C. longa* (5%) resultaram em valores estatisticamente diferentes da testemunha, porém inferiores a esta. Estes resultados indicam que embora tenha ocorrido redução da severidade de DFC e oídio em soja com os extratos de *C. longa*, *C. citratus* e *R. officinalis*, este evento provavelmente não esteja relacionado com alguma possível ativação ou indução da atividade de peroxidases e que, possivelmente, outros mecanismos de defesa da planta, ou mesmo uma atividade antimicrobiana direta, possam estar envolvidos no controle destas doenças.

ABSTRACT

CONTROL OF LATE SEASON LEAF DISEASES AND POWDERY MILDEW IN SOYBEAN BY AQUEOUS EXTRACTS OF *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus officinalis* and *Curcuma longa* AND BY CURCUMIN SOLUTIONS.

The occurrence of late season leaf diseases (DFC) caused by *Septoria glycines* and *Cercospora kikuchii* and powdery mildew caused by *Microsphaera diffusa* in soybean (*Glycine max*) are easily identified in field. In recent years, there has been a search for alternatives to fungicides that provide satisfactory disease control with low environmental impact and low toxicity to human. The objective of this study was to evaluate the effect of extract of *C. citratus*, *R. officinalis* and *C. longa* and by curcumin solutions, to control DFC and powdery mildew. *In vitro* assays were conducted to verify the antimicrobial activity of those plant extracts, by evaluation of the mycelial growth of *C. kikuchii* in PDA medium. Additionally, assays under field conditions were carried out with soybean cv. CD 215. The pyraclostrobin + epoxiconazole fungicide (0,6 L c.p. ha⁻¹) was used as control. Extract of *C. citratus* inhibited the mycelial growth of *C. kikuchii* in 36,9%, to concentrations up to 10% of the extract. To *R. officinalis*, the inhibited was 42,8% to concentration 10%. The lower antimicrobial activity was with *C. longa* with 17,9% of inhibition concentration 20%. In relation to field assays extract of *C. longa* 5% was higher than the control with water to the weight of one hundred seeds, like as *C. citratus* 5% and *R. officinalis* 5 and 10 %. The production of the extract of *C. longa* at 10% was 3856 kg ha⁻¹ with good control of diseases. *R. officinalis* at 5% showed production higher than the control with water. Those two treatments were 15% higher in relation of grain production than fungicide. The *C. citratus* and *C. longa*, both with 5%, and the chemical reduced the severity of late season diseases. The better control of powdery mildew was with extract of *C. citratus* and *R. officinalis* at 5%, *C. longa* at 5 and 10% and the fungicide. *R. officinalis* and *C. longa* at concentration of 5% were statistically different in relation to enzymatic peroxidase activity, however lesser the control with water. These results indicate that in spite of reducing diseases severity in soybean with the use of *C. longa*, *C. citratus* and *R. officinalis* extracts, this is have not relations with a probably activation of peroxidase activity and that, possibly, other plant defense mechanisms, or a direct antimicrobial activity, maybe envolved in the control of late season leaf disease and powdery mildew.

1 INTRODUÇÃO

A soja é a mais importante oleaginosa no mundo cuja produção mundial no ano de 2003/04 foi de 189,12 milhões de toneladas (Agrianual, 2005). Seu alto teor de proteínas proporciona múltiplas utilizações e a formação de um complexo industrial destinado ao seu processamento (Roessing & Guedes, 1993).

A soja como as demais plantas, precisa estar sempre bem nutrida, livre de doenças e protegida contra as pragas que possam lhe atacar e diminuir a sua produção. Dessa forma, para se obter retorno econômico do investimento, o agricultor necessita estar atento ao manejo adequado que a cultura requer (Bokert et al., 1994).

Entre os fatores que limitam o rendimento da soja, as doenças são os mais importantes por serem de difícil controle (EMBRAPA, 2004). A importância econômica de cada doença varia de acordo com o ano e a região, dependendo da condição climática de cada safra, podendo-se, no entanto, destacar as doenças de final de ciclo ou DFC, causadas por *Cercospora kikuchii* e *Septoria glycines*, e o oídio causado por *Microsphaera diffusa*. No Brasil, o valor das perdas anuais por doenças é relativamente alta, e tende a aumentar pelo microclima favorável proporcionado pelo sistema plantio direto (menor temperatura e aumento do teor de umidade no solo), facilitando a disseminação dos patógenos (Bokert et al., 1994).

O controle das doenças de plantas através de resistência é o modo mais eficaz e econômico, porém, para a maioria dos patógenos, não existem cultivares resistentes. A eliminação ou a manutenção das doenças em nível de dano

econômico depende do conhecimento das exigências específicas de cada uma delas e da integração de várias práticas culturais, onde se incluem: rotação/sucessão de culturas, tratamento químico da semente, resistência varietal, calagem e adubação equilibrada, população adequada de plantas, melhor época de semeadura, controle de plantas daninhas e tratamento químico da parte aérea (Bokert et al., 1994). O uso de fungicidas sintéticos tem sido o método mais utilizado para controle de DFC e oídio na soja, o qual, embora apresente excelentes resultados em curto prazo, pode acarretar em problemas de contaminação ambiental e do homem, além de selecionar populações do patógeno insensíveis a estes produtos. Adicionalmente, seu uso fica restrito aos cultivos convencionais de soja, não sendo permitida a sua utilização em cultivos orgânicos ou ecológicos.

Com relação ao tratamento da parte aérea visando ao controle de doenças, podem ser utilizados, além de fungicidas, produtos à base de microrganismos para controle biológico, bem como os produtos naturais extraídos de plantas medicinais. Estes últimos podem desempenhar tanto atividade antimicrobiana direta, através de sua fungitoxicidade inerente, quanto induzir resistência, através da ativação dos mecanismos de defesa da planta hospedeira. Assim as plantas medicinais, com seus compostos secundários podem oferecer ao agricultor consideráveis recursos para o controle de doenças.

Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram avaliar o potencial dos extratos das plantas medicinais *Cymbopogon citratus* (capim-limão), *Rosmarinus officinalis* (alecrim) e *Curcuma longa* (cúrcuma ou açafrão) no controle de DFC e oídio em soja *in vitro* e a campo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A cultura da soja

A soja (*Glycine max* (L.) Merrill) já é cultivada a muito tempo na China, mas pode ser considerada recente nas Américas. A adaptação ao continente americano foi muito boa e atualmente mais de 75% da produção mundial encontra-se nas Américas. No Brasil esta cultura começou a ter expressão econômica no Rio Grande do Sul na década de 60, e passado pouco mais de 40 anos, em 2004, o país já era o segundo produtor mundial, com 25% da produção (EMBRAPA, 2004).

A soja assume grande relevância econômica no Brasil com produção anual superior a 50 milhões de toneladas e área plantada de 21 milhões de hectares, participando efetivamente no PIB nacional e trazendo progresso para as regiões produtoras (Agrianual, 2005).

2.2 Doenças na cultura da soja

A expansão da área de cultivo da soja, aliada à falta de cuidados fitossanitários e ao monocultivo de cultivares geneticamente semelhantes, favoreceu a disseminação da maioria dos patógenos para as mais diversas regiões produtoras (Martins et al., 2003).

Entre as principais doenças foliares da soja estão a mancha parda (*Septoria glycines*); o crestamento foliar (*Cercospora kikuchii*), a ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizii*), a antracnose (*Colletotrichum truncatum*) e o oídio (*Microsphaera diffusa*) (Juliatti et al., 2003). Sob condições favoráveis, as doenças foliares de final de ciclo (DFC), complexo causado por *C. kikuchii* e *S. glycines* podem reduzir a produtividade de grãos em mais de 20%, equivalente a uma perda anual de quatro milhões de toneladas de soja na produção nacional (EMBRAPA, 2004). As perdas podem ser ainda maiores se as DFC forem associadas aos danos causados por outras doenças (cancro da haste, antracnose, nematóides de galhas, nematóide de cisto e podridão branca da haste) (Hamawaki et al., 2003).

2.2.1 Mancha parda ou septoriose

O agente causal da mancha parda é o fungo *Mycosphaerella uspenskajae* Mashk. & Tomil (*Septoria glycines* Hemmi). Esta doença está amplamente disseminada no país, podendo causar reduções superiores a 30% na produtividade. Inicialmente o fungo *S. glycines* é introduzido na lavoura por meio de sementes infectadas e, posteriormente, os conídios produzidos nas folhas e restos culturais são disseminados pela chuva e pelo vento (Yorinori, 1997).

Os primeiros sintomas provenientes de infecção na semente aparecem cerca de duas semanas após a emergência, como pequenas manchas de contornos angulares, de cor castanho-avermelhadas nas folhas unifoliadas. Sob situações favoráveis, a doença pode atingir os primeiros trifolíolos e causar severa desfolha em plantas de até 35-40 dias, sendo que após este período, as plantas se

recuperam. Um novo surto da doença ocorre ao final do enchimento das vagens, após o estágio R6. Nas folhas verdes, surgem pontuações pardas, menores que 1 mm de diâmetro, que evoluem e formam manchas com halos amarelados, de coloração parda na página superior e rosada na página inferior, medindo de 1 a 3 mm de diâmetro. Em infecções severas, causa desfolha e maturação prematura, com conseqüente redução da produtividade (Almeida et al., 1997).

A ocorrência da mancha parda é normalmente acompanhada da incidência de outra doença foliar denominada crestamento foliar de *Cercospora*. Ambas ocorrem no final de granação da soja e, devido à dificuldade em quantificá-las separadamente, são consideradas como um complexo de doenças de final de ciclo (Yorinori, 1997).

2.2.2 Crestamento foliar de *Cercospora* e mancha púrpura da semente

O agente causal do crestamento de *Cercospora* e mancha púrpura da semente é o fungo *Cercospora kikuchii* (Matsumoto & Tomoyasu) M. W. Gardner.

Assim como a mancha parda, esta doença está disseminada por todas as regiões produtoras de soja no país. Porém o crestamento foliar é mais severo nas regiões quentes e chuvosas dos cerrados. Seus efeitos são mais visíveis após os estádios de completa formação de vagens (R6) e início da maturação (R7.1). Ambas ocorrem na mesma época e, freqüentemente, devido às dificuldades que apresentam nas avaliações individuais, são consideradas como um “complexo de doenças de final de ciclo” (Yorinori, 1997).

A predominância de uma ou de outra doença pode ser notada sob condições de campo, pela coloração das folhas na fase de maturação. Quando o amarelecimento natural das folhas é rapidamente substituído por pequenas manchas de coloração parda ou crestamento castanho-claro, a predominância é da septoriose; e quando a coloração das folhas muda rapidamente para o castanho-escuro ou castanho-avermalhado, a predominância é de crestamento de *Cercospora*. Além do crestamento foliar, a elevada incidência da doença ocorrida no campo pode ser observada também após a colheita, pela alta frequência de sementes com mancha púrpura. Em ambos os casos, a mudança de coloração das folhas é seguida de rápida desfolha, enquanto as vagens ainda estão verdes. A antecipação da desfolha força a maturação antes que haja a completa formação dos grãos. A deficiência de granação pode atingir até 30% em relação a uma planta sadia (Almeida et al., 1997).

Nas folhas os sintomas aparecem a partir do final da granação e são caracterizadas por pontuações escuras, castanho-avermelhadas, as quais coalescem e formam grandes manchas escuras que resultam em severo crestamento e desfolha prematura. Nas vagens, aparecem pontuações vermelhas que evoluem para manchas castanho-avermelhadas. Através da vagem, o fungo atinge a semente e causa a mancha púrpura no tegumento. Nas hastes, o fungo causa manchas vermelhas, geralmente superficiais, limitadas ao córtex. Em certas situações, tal como em solos de baixa fertilidade nos primeiros anos de cultivo nos cerrados, quando a infecção ocorre nos nós, o fungo pode penetrar na haste e causar necrose de coloração avermelhada na medula. O fungo é introduzido em

lavouras por sementes contaminadas e sobrevive nos restos culturais (Yorinori, 1997).

2.2.3 Oídio

O agente causal do oídio é o fungo biotrófico *Microsporella diffusa* Cooke & Peck. O esporo (conídio ou ascósporo) do fungo, ao cair na superfície da folha, germina e produz uma teia de micélio que se espalha pela superfície da planta. O micélio penetra nas células epidérmicas e, por meio de haustórios intracelulares, nutre-se do conteúdo das células. Na superfície da planta forma-se uma fina camada de micélio e esporos (conídios) pulverulentos que, de pequenos pontos brancos, podem cobrir toda a folha, as vagens e parte da haste (Almeida et al., 1997).

Apesar de ser uma doença ainda de pouca expressão, a ocorrência de oídio está aumentando nas regiões altas dos cerrados e em campos de multiplicação de sementes na entressafra, sob irrigação (Yorinori, 1997). Porém, a partir da safra 1996/97, tem apresentado severa incidência em diversas cultivares em todas as regiões produtoras, desde os Cerrados ao Rio Grande do Sul. As lavouras mais atingidas podem apresentar perdas de produtividade de até 40-50% (EMBRAPA, 2004).

Os sintomas apresentados pelo oídio podem variar de clorose, ilhas verdes, manchas ferruginosas, desfolha acentuada ou combinações desses sintomas, dependendo da reação das cultivares. Todavia, o mais evidente é a própria estrutura branca e pulverulenta do fungo sobre a superfície das partes infectadas (Yorinori, 1997).

2.3 Controle de doenças

As alternativas para o controle das DFC são a escolha de variedades resistentes, épocas de plantio e rotação de culturas, além do uso de fungicidas no tratamento das partes aéreas. Entretanto, para que essa prática seja economicamente viável, exige-se um melhor conhecimento do uso de fungicidas em relação ao ciclo da cultura, produtos e suas misturas e época de aplicação, além de conhecer o grau de resistência da(s) cultivar (es) utilizada(s) em determinada região, bem como informações sobre condições ambientais que propiciam o aumento da intensidade das referidas doenças (Uzeika et al., 2003; Juliatti et al., 2003).

O controle das doenças através de resistência é o modo mais eficaz e econômico, porém, para a maioria dos patógenos, não existem cultivares resistentes. Na prática, a medida de controle mais utilizada acaba sendo o químico, através da pulverização de fungicidas para as doenças foliares de final de ciclo. O uso dos fungicidas pode trazer soluções a curto prazo para os agricultores. Porém, a longo prazo, pode acarretar em seleção de populações de fitopatógenos resistentes às substâncias químicas utilizadas, causar efeitos colaterais negativos sobre fungos benéficos, como *Nomurea rileyi* (favorecendo o aumento de populações da lagarta-da-soja) (EMBRAPA, 2004), além do grande risco de contaminação do meio ambiente e do homem (Kimati, 1995).

Neste contexto, termos como “agricultura alternativa” ou “agricultura sustentável” obtêm expressão política (Zadoks, 1992) e estimulam a busca de novas medidas de proteção das plantas contra as doenças.

2.4 Controle alternativo

Sob a denominação genérica de controle alternativo, estão incluídos o controle biológico, o controle induzido, também conhecido como indução de resistência, resistência induzida e imunização (Moraes, 1992) e o uso de extratos vegetais com atividades antimicrobiana e/ou indutora de resistência (Schwan-Estrada et al., 2003).

O controle biológico pode ser definido como o controle de um microrganismo pela ação direta de outro mecanismo antagônico, o qual pode atuar por meio de antibiose, parasitismo, competição, predação ou hipovirulência (Cook & Baker, 1983; Moraes, 1992). Já a indução de resistência envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes existentes nas plantas em resposta aos tratamentos com agentes bióticos ou abióticos (Hammerschmidt & Dann, 1997). Uma diferença fundamental entre o controle biológico e o controle induzido é que, no primeiro, a ação controladora se faz diretamente sobre o patógeno, enquanto que, no segundo, a ação se dá sobre a planta hospedeira, modificando a sua relação com o patógeno (Moraes, 1992).

A indução de resistência (ou indução de proteção, imunidade adquirida, ou resistência sistêmica adquirida) envolve a ativação de mecanismos de defesa latentes nas plantas em resposta ao tratamento com agentes bióticos ou abióticos (Hammerschmidt & Dann, 1997). Esses mecanismos podem ser estruturais ou bioquímicos (Pascholati & Leite, 1995). Essa ativação pode ser obtida pelo tratamento com agentes bióticos (como microrganismos viáveis ou inativados) (Stangarlin e Pascholati, 1994) ou abióticos, como ácido 2,6-dicloroisonicotínico

(Hijwegwn et al., 1996) e acibenzolar-S-metil – BION[®] (Ciba, 1995). A proteção conferida pelo tratamento é capaz de proteger a planta contra infecções subseqüentes por diferentes patógenos (Kuc, 1995).

As plantas medicinais e seus produtos podem oferecer ao agricultor considerável recurso para o controle de pragas, doenças e plantas invasoras que prejudicam o rendimento das culturas, especialmente na pequena propriedade (Guerra, 1995).

A exploração da atividade biológica de compostos secundários presentes no extrato bruto de plantas medicinais pode constituir, ao lado da indução de resistência, em uma forma potencial de controle alternativo de doenças em plantas cultivadas (Stangarlin et al., 1999).

Nesse contexto, várias plantas medicinais têm mostrado atividade antibacteriana e antifúngica como *Ocimum* sp. para controle de *Phytophthora* sp. e *Rhizoctoni solani* (Benini et al., 1999), *Artemisia canphorata* para controle de *Bipolaris sorokiniana* em trigo (Franzener et al., 2003), *Azadirachta indica* para o controle de *Oidium lycopersica* em tomateiro (Carneiro, 2003), *Eucalyptus citriodora* para controle de *Colletotrichum lagenarium* em pepino (Bonaldo et al., 2004), *Mikania glomerata* para controle de *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* em couve flor (Vigo-Schltz, 2004), *Zingiber officinalis* para controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em alface (Rodrigues, 2004) e de *Brassica rapa* para controle de *R. solani* em feijoeiro (Dhinghra et al., 2004).

2.5 Alecrim (*Rosmarinus officinalis*)

Originário da região do Mediterrâneo, o alecrim é uma planta semi-arbustiva, perene, lenhosa, ramificada, da família Lamiaceae, cuja altura oscila entre 50 cm a 2 m. As folhas possuem comprimento de 2 a 4 cm e largura de 1 a 4 mm, sendo lineares, estreitas, opostas, sésseis, coriáceas, com bordos recurvados ou enrolados para dentro ao longo da nervura central. A página superior das folhas é verde rugosa, e a página inferior contém pêlos finos e é brilhante e esbranquiçada. As flores estão dispostas em pequenos cachos na axila de brácteas e possuem cor azul-violeta, rosa ou branca (Corrêa et al., 1998; Hertwig, 1986; Silva et al., 1995). A produtividade média, quando plantada em condições ideais de clima e solo, pode chegar ao redor de 11.500 kg/ha de planta fresca e 3.900 kg/ha de matéria seca (Corrêa Jr. et al., 1994; Martins et al., 1994, Simões et al., 1989).

R. officinalis têm os seguintes princípios ativos: taninos, flavanóides, óleo essencial rico em terpenos (cineol, pineno, borneol, canfeno, eucaliptol, acetato de isobornila, valerianato de isonila, cânfora), além de saponinas, ácidos (cítrico, glicólico, glicínico, rosmarínico), nicotinamida, colina, pectina, rosmaricina e vitamina C (Teske e Trentini, 2001).

O potencial de *R. officinalis* para controle de fitopatógenos foi verificado por Becker (2003). Neste trabalho, os extratos de alecrim a 5% e 10% reduziram em 43% e 52%, respectivamente, a severidade da mancha angular causada por *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* em pepino cultivado organicamente e em ambiente protegido. Estes resultados não diferiram, no entanto, do tratamento padrão do agricultor, representado pela calda bordaleza. O extrato de alecrim neste

trabalho também apresentou atividade elicitora, induzindo a produção de fitoalexinas em bioensaio com mesocótilos de sorgo.

Gasparini et al. (2000), em ensaio *in vitro*, utilizaram extrato aquoso de *R. officinalis* isoladamente ou em mistura com *Lippia alba* nas concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e 50%, esterilizado por autoclavagem para verificar o efeito sobre o crescimento micelial dos isolados de *Colletotrichum graminicola*, *Alternaria alternata*, *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. Este ensaio indicou que em relação ao extrato bruto de alecrim, houve maior inibição na concentração de 50% para os isolados estudados, com exceção a *A. alternata*, onde a inibição foi maior nas concentrações de 10 e 15%. Com relação ao extrato bruto de erva cidreira, os fungos *S. rolfsii*, *A. alternata* e *R. solani* apresentaram inibição do crescimento micelial na concentração de 50%, o que não ocorreu com *C. graminicola*, para o qual os melhores resultados estavam nas concentrações de 10% e de *Phytophthora* sp., onde a inibição ocorreu na concentração de 15%. Quando em presença da mistura dos extratos, os resultados obtidos mostraram que ocorreu inibição no crescimento micelial de *C. graminicola*, *A. alternata* e *S. rolfsii*, na concentração de 50%, enquanto que para *R. solani* e *Phytophthora* sp. a inibição foi maior nas concentrações de 25 e 15%, respectivamente.

2.6 Capim limão (*Cymbopogon citratus*)

Esta planta, originária da Índia, é herbácea, perene, cespitosa, da família Gramineae, caule rizomatoso, curto, com nós bem demarcados, com até 2 m de

altura. As folhas são alongadas, limbo linear, lanceolado, áspero nas duas faces, paralelinérvias, bordo liso, cortante e são recobertas por fina camada de cera esbranquiçada. Possuem inflorescência do tipo panícula (Corrêa et al., 1998; Hertwig, 1986; Martins et al., 1994; Silva et al., 1995).

C. citratus têm os seguintes princípios ativos: óleo essencial aromático, ricos em terpenos, citral (mistura de neral e geranial), mirceno, canfeno, limoneno, mentol, linalol, flavanóides, saponina, sisterol, taninos, álcoois saturados de cadeia longa (hexaconsanol e triacontanol) e triterpenóides (Teske e Trentini, 2001).

O potencial de *C. citratus* para controle de fitopatógenos foi também verificado por Becker (2003). Os extratos aquosos a 5% e 10% não foram capazes de reduzir a severidade da mancha angular causada por *P. syringae* pv. *lachrymans* em pepino cultivado organicamente e em ambiente protegido, embora o extrato a 1% tenha potencial elicitor, induzindo a síntese de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo.

Em ensaio *in vitro* contra *Cladosporium fulvium* isolado de tomateiro, o extrato de *C. citratus*, em concentração maior de 20%, apresentou inibição total de até 61% para esporulação, 21% para germinação de esporos e 60% para crescimento micelial do patógeno (Baldo et al., 2005)

2.7 Cúrcuma (*Curcuma longa*)

A cúrcuma uma planta da família Zingiberaceae, originária do sudoeste da Ásia (Cecílio Filho et al., 2000), é também conhecida vulgarmente no Brasil por

açafrão da Índia ou açafrão da terra. Pode ser cultivada praticamente em locais que apresentam clima tropical e subtropical (Pereira & Stringheta, 1998).

A planta é do tipo herbácea e perene, atinge em média 120 a 150 cm de altura em condições favoráveis de clima e solo (Cecílio Filho et al., 2000). É uma planta com caule tipo rizomas de onde partem quatro ou cinco folhas com pecíolos longos e disposição alternada. As folhas são de formato lanceolado, liso de cor verde pálida, apresentam sulcos oblíquos na face inferior, com 30 a 50 cm de comprimento com 10 a 15 cm de largura. Na parte inferior, a justaposição dos pecíolos forma uma espécie de estirpe (Peckolt & Peckolt, 1899¹ apud Cúrcuma, 2003).

Os rizomas representam o interesse econômico da cultura, apresentando características como: 12% de proteína, 30 a 50% de amido, 5,5% de fibras e 2 a 9% de cinzas. No entanto, não são os atributos nutritivos os principais componentes qualitativos dos rizomas de cúrcuma, sendo caracterizado e avaliado pela presença do corante curcumina e de óleos essenciais (Cecílio Filho, 1996). Atualmente, são três os produtos de cúrcuma no mercado: o pó de cúrcuma, que consiste em raízes secas e moídas; a oleosina, que é obtida por extração com solventes do pó da cúrcuma, com rendimentos de 12%, sendo que este apresenta 30 a 40% de pigmentos expressos em curcumina e de 15 a 25% de óleo volátil, sendo um produto altamente viscoso e de cor marrom alaranjada, e, o terceiro produto é o extrato de curcumina purificado, que se apresenta sem o aroma ou sabor residual (Pereira & Stringheta, 1998).

¹ PECKOLT, T & PECKOLT, G. **História das plantas medicinais e úteis do Brasil**. 7º fascículo – Rio de Janeiro: Cia. Typographica do Brasil, p. 1119-1369, 1899.

Utilizada desde a antiguidade na medicina e gastronomia popular do oriente, a cúrcuma vem se tornando importante para a ciência moderna no combate a vários problemas, podendo destacar-se alguns efeitos de seus como: antiinflamatório, antioxidante, antiprotozoário, antibacteriano, antifúngico e antinematóide. Podem ser acrescentados os efeitos conhecidos pela farmacopéia asiática como estomáquico, estimulante, carminativo, expectorante e anti-helmíntico (Cecílio Filho & Souza, 1999; Teske e Trentini, 2001).

Trabalhos sobre o potencial de *C. longa* no controle de fitopatógenos referem-se basicamente ao estudo da atividade antimicrobiana *in vitro* de seus compostos, como contra *Colletotrichum gloesporioides*, *Sphaceloma cardamoni*, *Pestalotia palmarum*, *Rhizoctonia solani*, *Aspergillus* sp. e *Fusarium* sp. (Saju et al., 1998), *Fusarium udum* (Singh & Rai, 2000), *Machopomina phaseolina* (Raja & Kurucheva, 1998), *Colletotrichum falcatum*, *Fusarium moniliforme*, *Curvularia pallescens*, *Aspergillus niger* e *Fusarium oxysporum* (Singh et al., 2002)

São poucos os trabalhos verificando o potencial *in vivo* de cúrcuma no controle de doenças a campo. Um deles é o de Kuhn (2003) no qual foi estudado o efeito de *C. longa* em *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*. *In vitro*, o extrato apresentou ação bactericida para concentrações que variam de 10 a 20% dependendo da procedência dos rizomas. No entanto, *in vivo*, nas concentrações utilizadas, não houve efeito curativo em manivas de mandioca infectadas com o patógeno. Trabalhando em casa de vegetação, Balbi-Peña (2005), observou que a curcumina e os extratos brutos de cúrcuma apresentaram níveis de controle de pinta preta (*Alternaria solani*) do tomateiro similares ao tratamento com fungicida cúprico, mas inferior ao azoxystrobin. Não houve diferenças estatísticas na produção

comercial de tomate entre tratamento. Somente o tratamento de curcumina 50 mg L⁻¹ apresentou maior porcentagem de frutos grandes em relação a testemunha. *In vitro*, os extratos de cúrcuma a 10 e 15% não autoclavados inibiram em 38,2% e 23,2%, respectivamente, o crescimento micelial e 71,7% e 87%, respectivamente, a esporulação do fungo. Quando autoclavados, não apresentam inibição do crescimento micelial nem da germinação de esporos e a inibição da esporulação foi menor, indicando a presença de compostos antimicrobianos termolábeis. O extrato não autoclavado na concentração de 5% inibiu em até 15% a germinação dos esporos. A curcumina inibiu em 29,5% na maior concentração testada, sem, contudo, afetar a esporulação e a germinação de esporos de *A. solani*.

Também Kim (2003), utilizando soluções de curcumina (125, 250, 500 e 1000 mg L⁻¹), em casa de vegetação, conseguiu inibição completa dos fungos *Phytophthora infestans*, em tomate e *Puccinia recondita*, em trigo, na concentração de 500 mg L⁻¹. Para *Botrytis cinerea*, em pepino e *Rhizoctonia solani* em arroz, houve um controle de 63 e 40%, respectivamente. No entanto os fungos *Pyricularia grisea*, em arroz e *Erysiphe graminis*, em trigo se mostraram insensíveis aos tratamentos utilizados.

2.8 Mecanismos de defesa da planta

A resistência do hospedeiro a uma doença pode ser definida como a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada e/ou a subsequente atividade de um patógeno nos tecidos da mesma (Goodman et al., 1986). Para atingir esse

objetivo a planta utiliza-se de fatores de resistência ou mecanismos de defesa divididos em duas categorias: pré-formados, presentes na planta antes do contato com o patógeno e pós-formados, que se mostram ausentes ou presentes em baixos níveis antes da infecção, sendo produzidos ou ativados em resposta à presença do patógeno (Misaghi, 1982). Para Pascholati & Leite (1994, 1995) esses mecanismos podem ser:

A. Pré-formados (passivos ou constitutivos):

- a) Estruturais: cutícula, tricomas, estômatos, fibras/vasos condutores;
- b) Bioquímicos: fenóis, alcalóides glicosídicos, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos e cianogênicos, inibidores protéicos, fitoalexinas, quitinases e β -1,3 glucanases.

B. Pós-formados (ativos ou induzíveis):

- a) Estruturais: papilas, halos, lignificação, camadas de cortiça, tiloses.
- b) Bioquímicos: fitoalexinas e proteínas relacionadas à patogênese.

A seqüência de eventos relacionados à indução e expressão da resistência ou resposta de defesa inicia-se com o reconhecimento pelo hospedeiro de alguma característica química ou estrutural do patógeno, ou agente de estresse ou dano associado com a invasão. Esta percepção resulta na produção ou liberação de um composto sinalizador que é responsável pela indução de resposta de defesa da planta (Johal et al., 1995)

Os mecanismos ativos de defesa das plantas contra fitopatógenos envolvem alterações metabólicas que estão relacionadas com mudanças na atividade de

enzimas chaves, como a peroxidase, nos metabolismos primário e secundário (Fric, 1976).

2.8.1 Peroxidase

A enzima peroxidase participa de vários processos fisiológicos nas plantas, catalisando a oxidação e a eventual polimerização de álcool hidroxicinâmico em presença de peróxido de hidrogênio (Gaspar et al., 1982), compostos estes relacionados à produção de lignina, e que são depositadas nas paredes celulares e papila, impedindo o crescimento e desenvolvimento do patógeno (Ride, 1983). A lignina é uma das mais importantes substâncias da parede celular, e pode estar presente em todas as três camadas da parede: lamela média, parede primária e secundária (Taiz & Zeiger, 2004).

Esta enzima participa da biossíntese do hormônio vegetal etileno (Ishige et al., 1993), da oxidação de compostos fenólicos, os quais acumulam-se em resposta à infecção (Fry, 1986), oxidação do ácido indolil-3-acético (AIA) e na biossíntese da lignina (Hoagland, 1990). Mudanças na atividade das peroxidases têm sido freqüentemente correlacionadas a resposta de resistência ou suscetibilidade em diferentes patossistemas (Bonatti et al., 1994), como em folhas de uva inoculada com *Plasmopora viticola* (Kortekamp & Zyrprian, 2003), folhas de feijão inoculadas com *Botrytis fabae* (Nawar & Kuti, 2003).

A lignificação é um fator de resistência estrutural formada após a infecção do patógeno, interferindo no crescimento do patógeno através da modificação química das paredes celulares, produção de compostos fenólicos de baixo peso molecular e

os patógenos também podem ser lignificados, sendo o crescimento dos mesmos interrompidos (Pascholati & Leite, 1995).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Plantas medicinais utilizadas

Foram utilizadas três espécies de plantas medicinais: *Curcuma longa* (cúrcuma), *Cymbopogon citratus* (capim limão) e *Rosmarinus officinalis* (alecrim), cultivadas na propriedade indicada no item 3.3 e coletadas frescas no dia do preparo do extrato e da aplicação.

3.2 Experimento *in vitro*

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Fitopatologia da UNIOESTE – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, no período compreendido entre os meses de abril de 2004 a julho de 2005.

3.2.1 Obtenção dos fungos fitopatogênicos

Os inóculos foram obtidos a partir do isolamento dos fungos *C. kikuchii* presentes em lesões de sementes de soja infectadas naturalmente no campo. Os isolados foram mantidos em meio de cultura BDA, e meio de folhas de cenoura (Dhingra & Sinclair, 1995), em câmara de crescimento a ± 25 °C e fotoperíodo de 12 h.

3.2.2 Obtenção do extrato bruto das plantas medicinais

O extrato bruto (EB) foi obtido de acordo com Stangarlin et al. (1999) a partir da trituração das plantas medicinais, em liquidificador, com água destilada contendo 0,25% do antioxidante sulfito de sódio (Na_2SO_3) por 1 min (Franzener et al., 2001). O homogeneizado resultante foi filtrado em gaze e em papel de filtro Whatman nº 41 e, posteriormente, diluído para concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20%.

3.2.3 Efeito do EB sobre o crescimento micelial de *C. kikuchii*

O EB nas concentrações indicadas foi misturado ao meio de cultura BDA e autoclavado durante 20 min a 120 °C sendo, em seguida, transferidos 15 mL para placas de Petri de 90 mm de diâmetro. Um disco de 7 mm de diâmetro, contendo o micélio do fungo *C. kikuchii* foi transferido para o centro de cada placa de Petri.

As avaliações foram realizadas por meio da mensuração diária do diâmetro das colônias, correspondente à média de duas medidas diametralmente opostas da colônia fúngica, iniciando-se 24 h após a instalação do experimento e perdurando até o momento em que as colônias do tratamento controle colonizaram 2/3 da superfície total do meio de cultura na placa de Petri. Os valores obtidos para o crescimento micelial foram transformados em porcentagem de inibição do crescimento micelial (PIC) utilizando-se fórmula descrita por Bastos (1997).

Além do EB das plantas medicinais, foi utilizada também uma testemunha (BDA), testemunha (Alcool), um fungicida (indicado no item 3.3) e solução de curcumina nas concentrações de 25, 50, 100, 200 e 400 mg L⁻¹. A curcumina,

purificada a partir da *C. longa* é uma substância comercial disponível e neste trabalho foi utilizada CURCUMINA PS da Merck (nº produto 820354).

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com três repetições e 23 tratamentos, sendo cada repetição representada por uma placa de Petri. Os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, pelo Programa ESTAT.

3.3 Experimento *in vivo*

Este experimento foi desenvolvido na propriedade do Sr. Waldir Ivo Becker, no município de Toledo/PR (sob infecção natural no campo), em convênio com a UNIOESTE - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon/PR, no período de outubro de 2004 a abril de 2005. Os tratamentos utilizados no ensaio estão no Tabela 1.

OPERA[®] é um fungicida sistêmico, do grupo químico das estrobilurinas e triazóis, com formulação do tipo suspo/emulsão e com classe toxicológica II – altamente tóxico (Andrei, 2003).

Tabela 1. Tratamentos utilizados no ensaio de campo para controle de doenças de final de ciclo e oídio na cultura da soja, no município de Toledo/PR.

TRATAMENTO	PRODUTO COMERCIAL	DOSAGEM
Testemunha ¹	— ²	—
Fungicida ³	OPERA [®]	0,6 L ha ⁻¹
Capim Limão	—	5%
Capim Limão	—	10%
Cúrcuma	—	5%
Cúrcuma	—	10%
Alecrim	—	5%
Alecrim	—	10%
Curcumina	CURCUMINA	5 g i.a. 100 mL ⁻¹ (50 mg L ⁻¹)
Curcumina	CURCUMINA	10 g i.a. 100 mL ⁻¹ (100 mg L ⁻¹)

¹ Plantas m antidas sem controle de doenças

² não há produto comercial

³ Pyraclostrobin + epoxiconazole

3.3.1 Solo utilizado no experimento

O experimento foi realizado em Latossolo Vermelho Eutrófico. O solo foi caracterizado quimicamente no Laboratório de Química Agrícola e Ambiental (UNIOESTE) antes da instalação do trabalho para fins de correção e adubação (Tabela 2).

Tabela 2. Características químicas do solo utilizado no experimento de campo para controle de doenças de final de ciclo e oídio na cultura da soja, no município de Toledo/PR.

CARACTERÍSTICAS	VALOR
Matéria Orgânica (g dm ⁻³)	35,89
P (mg dm ⁻³)	7,87
K (cmol _c dm ⁻³)	0,36
Ca ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	6,18
Mg ²⁺ (cmol _c dm ⁻³)	2,70
pH (CaCl ₂ 0,01 mol L ⁻¹)	5,00
SB (cmol _c dm ⁻³) ¹	9,23
CTC (cmol _c dm ⁻³) ²	15,71
V% ³	58,80
Al ³⁺ (cmol _c dm ⁻³)	0,25

¹ Soma das bases

² Capacidade de troca de cátions

³ Saturação por bases

3.3.2 Cultura e delineamento experimental

Foram utilizadas sementes de soja da cultivar COODETEC 215, que tem as seguintes características: grupo de maturação: precoce, com média de 115 dias e hábito de crescimento determinado, sendo moderadamente resistente ao acamamento, resistente ao cancro da haste e mancha “olho de rã”, moderadamente resistente ao oídio e suscetível ao nematóide de galha, *Meloidogyne. incognita*.

O delineamento experimental utilizado foi de blocos ao acaso, sendo os blocos constituídos por 10 tratamentos e quatro repetições (Tabel 1).

3.3.3 Implantação do experimento

No preparo da área para a semeadura foi realizada a dessecação das plantas daninhas com o herbicida glyphosate 2 L p.c. ha⁻¹. Após a emergência da soja,

o controle das plantas daninhas foi realizado com o uso de herbicidas pós-emergentes, quando necessário, permanecendo assim a cultura livre das mesmas.

O experimento foi instalado dentro de uma lavoura comercial que está sob sistema de plantio direto na palha por 10 anos. A semeadura foi realizada em meados de outubro em profundidade de 3 a 5 cm e com densidade de 12 a 15 sementes por metro linear. Cada parcela foi composta por cinco linhas com 5 m de comprimento e espaçadas de 0,45 m. Considerou-se como área útil 4 m das três linhas centrais, totalizando 5,4 m². A adubação foi realizada na semeadura de acordo com a análise de solo e a colheita foi realizada no final de fevereiro de 2005.

A aplicação dos fungicidas e dos demais tratamentos foi realizada quando a cultura se apresentava no estágio R5.1 (Souza Neto & Zagomel, 2002). A aplicação foi realizada com um pulverizador de CO₂ com volume de calda de 285 ml por parcela, que equivale a 207 L ha⁻¹.

3.3.4 Tratos culturais

Os tratos culturais do experimento foram os mesmos utilizados na condução da lavoura comercial que estava cercado o experimento, sendo realizadas aplicações de inseticidas para controle da lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*) e para controle de percevejos da soja.

3.3.5 Parâmetros avaliados

Os seguintes parâmetros foram avaliados:

Produtividade – a colheita foi feita manualmente com auxílio de uma foice. As plantas da parcela útil foram levadas ao terreiro para a abertura das vagens, separando-se os grãos e a palhada com auxílio de peneira e transformando-se a massa obtida em Kg ha^{-1} , corrigida para 13% de umidade.

Massa de 100 grãos – para caracterização da massa de 100 grãos foi utilizada metodologia própria onde foram coletadas 10 amostras de 100 grãos de cada parcela. Estas foram pesadas e colocadas na estufa a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após 24 horas foram novamente pesados os 100 grãos, obtendo-se assim, a umidade dos grãos de cada parcela, pela média aritmética das 10 amostras. A massa de 100 grãos foi corrigida para 13% de umidade.

Avaliação da quantidade de doença – para análise da severidade de doenças utilizou-se a escala de nota visual segundo Azevedo (1998), no estágio R6 a R7, dando-se notas de 0 a 5 para Oídio que correspondem a: ausência de doenças – 0, 1-10% da área foliar infectada – 1, 11-30% da área foliar infectada – 2, 31-50% da área foliar infectada – 3, 51-70% da área foliar infectada – 4 e mais de 70% da área foliar infectada – 5. Para análise da severidade das DFC utilizou-se a escala diagramática elaborada por Martins et al. (2004), no estágio R6 a R7, dando-se notas de 0 a 5 para: ausência de doenças – 0, até 2,4% da área foliar infectada – 1, 2,5-15,2% da área foliar infectada – 2, 15,3-25,9% da área foliar infectada – 3, 26-40,5% da área foliar infectada – 4, 40,6-66,6% da área foliar infectada – 5 e mais de 66,6% da área foliar infectada – 6 (Figura 1).

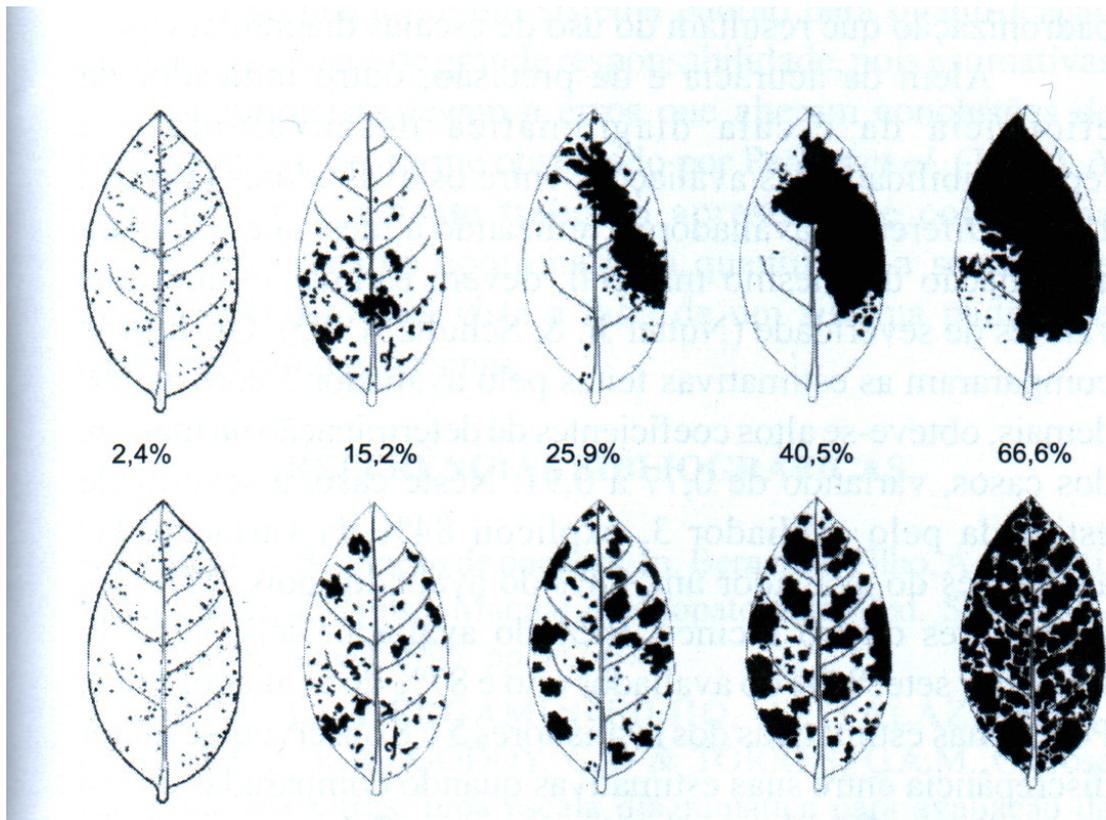


Figura 1. Escala diagramática para avaliação de severidade de doenças de final de ciclo (DFC) na cultura da soja. Painel superior: sintomas agregados; painel inferior: sintomas distribuídos (Martins et al., 2004).

3.4 Dosagem de peroxidase

No momento dos tratamentos, e também após 1, 3, 5 e 7 dias, foram retiradas amostras foliares para determinação da atividade de peroxidase, utilizando-se para isto um furador de rolha com diâmetro de 7 mm. Cada amostra continha 10 discos que foram retirados uniformemente de diferentes partes do terço superior das plantas. Imediatamente após a coleta os discos eram colocados em envelopes feitos com papel alumínio e mantidos em gelo, sendo posteriormente, congelados e

armazenados a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Foram coletadas quatro repetições por tratamento e por tempo de amostragem.

As amostras coletadas e congeladas foram homogeneizadas em 2 mL de tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0) em almofariz de porcelana. O homogeneizado foi centrifugado a 6.000g durante 10 min. O sobrenadante obtido, considerado como fração contendo as peroxidases solúveis, foi congelado para posterior determinação da atividade enzimática. Todo o processo de extração das peroxidases foi conduzido a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Lusso & Pascholati, 1999). A atividade das peroxidases foi determinada a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, através do método espectofotométrico direto (Hammerschmidt et al., 1982). A mistura da solução continha de 2,9 mL de uma solução contendo 250 μL de guaiacol e 306 μL de peróxido de oxigênio em 100 mL de tampão fosfato de sódio 0,01 M (pH 6,0). A reação foi seguida em espectrofotômetro a 470 nm. Os valores foram expressos em unidades de Δ absorbância $\text{min}^{-1}\text{ mg}^{-1}$ de peso fresco.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Experimento *in vitro*

Os extratos de *C. citratus* foram os que mais inibiram o crescimento micelial de *C. kikuchii*, com valores de até 36,9% para concentrações a partir de 10% do extrato (Tabela 3). Para *R. officinalis*, as inibições foram verificadas apenas a partir da concentração de 10% do extrato, alcançando o valor de 42,8% de inibição, para o extrato a 20%. *C. longa* foi a planta com menor atividade antimicrobiana, com inibição de apenas 17,9% para o extrato a 20%. Para a curcumina soluções a partir de 200 mg L⁻¹ inibiram em média 15,1% o crescimento micelial *in vitro* do patógeno. A maior inibição observada foi com o tratamento fungicida, com valor de 84,6%.

O potencial antimicrobiano de *R. officinalis* já foi verificado com outros fungos fitopatogênicos. Nozaki et al. (1999) estudando o efeito de alecrim no crescimento micelial de *Alternaria* sp., *Alternaria carthami* e *Sclerotium rolfsii*, verificaram que alíquotas acima de 60 µL do óleo essencial promoveram a inibição completa de *S. rolfsii* enquanto que alíquotas acima de 200 µL causaram inibição de 100% no crescimento de *Alternaria* sp..

Para *C. citratus*, Bonaldo et al. (1999) estudaram o potencial desta planta e também de *Eucalyptus citriodora*, sobre *Alternaria alternata*, *A. solani* e *A. steviae*. Os mesmos autores observaram que o extrato bruto de capim-limão, em concentrações de 25 e 50%, inibiu o crescimento micelial de *A. alternata* em 19 e 36% e de *A. steviae* em 29 e 30%, respectivamente, enquanto que para *A. solani* a inibição foi em torno de 12%.

Tabela 3. Inibição do crescimento micelial (%) de *C. kikuchii* em presença de extrato bruto aquoso de *C. citratus*, *R. officinalis* e *C. longa* e solução de curcumina. Marechal Cândido Rondon/PR

TRATAMENTOS	Concentração do extrato bruto aquoso (%)					MÉDIA
	1	5	10	15	20	
<i>C. citratus</i>	0,0 ¹ e ²	8,8 d	35,1 b	36,9 b	36,5 b	23,5 ³ B
<i>R. officinalis</i>	15,9 c	16,1 c	16,8 c	17,6 c	42,8 b	21,8 B
<i>C. longa</i>	0,0 e	2,1 e	3,9 d	5,6 d	17,9 c	5,9 D
	Concentração em mg L ⁻¹					MÉDIA
	25	50	100	200	400	
Curcumina	12,6 ⁵ c	8,8 d	2,1 d	12,3 c	17,9 c	10,7 C
Controle (H ₂ O)						0,0 E
Fungicida ⁴						84,6 A
CV	16,37					

¹ Valores expressos em porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação ao controle H₂O;

² Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey 5%;

³ Médias em porcentagem das cinco concentrações de cada tratamento;

⁴ Piraclostrobin + epoxoconazole (0,6 L ha⁻¹);

⁵ Valores expressos em porcentagem de inibição do crescimento micelial em relação ao controle com Álcool.

Com relação à *C. longa*, Balbi-Peña (2005) estudou o efeito do rizoma de cúrcuma em *A. solani*. Os extratos a 10 e 15% não autoclavados inibiram 38,2 e 23,2%, respectivamente, o crescimento micelial e 71,7 e 87% respectivamente, a esporulação do fungo. Quando autoclavado, não apresentaram inibição do crescimento micelial nem da germinação dos esporos, e a inibição da esporulação foi menor, indicando a presença de compostos antimicrobianos termolábeis. A autora também trabalhou com solução de curcumina a 50, 100, 200 e 400 mg L⁻¹, as quais, no entanto, não inibiram a esporulação e a germinação de esporos *in vitro*, reduzindo apenas o crescimento micelial em 29,5% na maior concentração testada.

4.2 Experimento *in vivo*

Verificou-se que a massa de 100 grãos do tratamento com *C. longa* a 5% foi superior à testemunha, porém igual a *C. citratus* a 5% e *R. officinalis* a 5 e 10 % (Tabela 4). Todos esses valores foram superiores ao tratamento com fungicida.

Para a variável peso total, o tratamento com *C. longa* a 10% obteve uma produtividade de 3856 kg ha⁻¹ (Tabela 4) mostrando também um bom controle de DFC e oídio. Além deste tratamento, extrato de *R. officinalis* a 5% proporcionou produção de grãos estatisticamente superiores ao tratamento com fungicida. Nesses dois tratamentos a produção foi em média 15% superior àquela com produto químico.

Na literatura não há nenhum relato sobre controle alternativo de doenças em soja pelo uso de produtos naturais, tanto para ensaios sob condições controladas quanto a campo. No caso das plantas medicinais utilizadas neste trabalho, há referências de tal tipo de controle em outros patossistemas. Balbi-Peña (2005), utilizando extratos de *C. longa* (1 e 10%) e soluções de curcumina (50 e 100 mg L⁻¹) conseguiu níveis de controle da pinta preta (*A. solani*) do tomateiro, em condições de cultivo protegido similares ao tratamento com fungicida cúprico, mas inferior ao fungicida azoxystrobin. No entanto, solução de curcumina a 50 mg L⁻¹ foi o único tratamento que proporcionou maior porcentagem de frutos grandes em relação à testemunha sem controle.

Kim (2003) utilizando soluções de curcumina (125, 250, 500 e 1000 mg L⁻¹), em casa de vegetação, conseguiu inibição completa dos fungos *Phytophthora*

infestans, em tomate e *Puccinia recondita*, em trigo, na concentração de 500 mg L⁻¹, já para *Botrytis cinerea*, em pepino e *Rhizoctonia solani* em arroz, houve um controle de 63 e 40%, respectivamente. No entanto os fungos *Pyricularia grisea*, em arroz e *Erysiphe graminis*, em trigo foram insensíveis aos tratamentos utilizados.

Tabela 4. Controle de doenças de final de ciclo (DFC) (*C. kikuchii* e *S. glycines*) e oídio (*M. diffusa*) em plantas de soja cv CD 215 tratadas com extrato bruto aquoso de *C. citratus*, *R. officinalis* e *C. longa* e solução de Curcumina em condições de campo, ano agrícola 2004/2005. Toledo/PR.

Tratamentos	Massa 100 sementes (g)	Peso total (kg ha ⁻¹)	Severidade (%)	
			DFC	Oídio
<i>C. citratus</i> (%)				
5	14,36 ab ¹	3699 abc	2 b	10 b
10	13,90 cde	3605 abc	13 ab	22 ab
<i>R. officinalis</i> (%)				
5	14,38 ab	3746 ab	13 ab	10 b
10	14,19 abc	3667 bcde	23 a	21 ab
<i>C. longa</i> (%)				
5	14,42 a	3243 e	2 b	10 b
10	13,93 cde	3856 a	11 ab	10 b
Curcumina(mg L ⁻¹)				
50	13,92 cde	3652 abc	11 ab	13 ab
100	14,06 bcd	3557 abcd	23 a	13 ab
Fungicida ²	13,74 de	3321 de	2 b	10 b
Testemunha (H ₂ O)	13,69 e	3416 cde	30 a	29 a
CV (%)	1,0	3,4	34,6	6,9

¹ Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey 5% de probabilidade;

² Piraclostrobin + epoxoconazole (0,6 L ha⁻¹).

O melhor controle de DFC ocorreu nos tratamentos com *C. citratus* e *C. longa*, ambas a 5%, e com o fungicida. O melhor controle de oídio ocorreu com extratos de *C. citratus* e *R. officinalis* a 5% e *C. longa* a 5 e 10% e fungicida. Para a avaliação da severidade de DFC realizadas no estágio R7, os tratamentos com *C. longa* e *C. citratus* foram estatisticamente iguais ao fungicida.

4.3 Dosagem de peroxidase

Os resultados da atividade de peroxidase podem ser observados na Tabela 5. Verificou-se que apenas *R. officinalis* e *C. longa* a 5% resultaram em atividade de peroxidase estatisticamente diferente da testemunha, porém inferior a esta.

O comportamento individual, de cada tratamento, com relação à atividade de peroxidase, em diferentes tempos após a aplicação, pode ser observado na Figura 2. Todos os tratamentos resultaram em incrementos na atividade enzimática 24 h após as aplicações. No entanto, somente com o extrato de *R. officinalis* a 10% é que se verificou diferença nesse incremento, em relação aos demais tratamentos, para esse tempo de amostragem, embora com relação à atividade total da peroxidase (Tabela 5), esse tratamento não tenha diferido da testemunha.

Tabela 5. Atividade total de peroxidase em plantas de soja cv. CD 215 tratadas com extrato bruto aquoso de *Cymbopogon citratus*, *Rosmarinus officinalis* e *Curcuma longa* e solução de curcumina em condições de campo, ano agrícola 2004/2005. Marechal Cândido Rondon/PR.

Tratamentos	Atividade de peroxidase ¹ (U. E. min ⁻¹ g.p.f ⁻¹)	
<i>C. citratus</i> (%)		
5	2,74	cde ³
10	2,94	a
<i>R. officinalis</i> (%)		
5	2,64	de

10	2,87	ab
C. longa (%)		
5	2,64	e
10	2,76	bcd
Curcumina (mg L ⁻¹)		
50	2,77	bc
100	2,83	abc
Fungicida ²	2,72	cde
Testemunha (H ₂ O)	2,84	abc

¹ Atividade em unidade enzimática (U.E.) a 470 nm por minuto de reação por grama de peso fresco (g.p.f);

² Piraclostrobin + Epoxiconazole (0,6 L ha⁻¹);

³ Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey 5% de probabilidade.

Estes resultados (Figura 2) indicam que embora tenha ocorrido redução da severidade de DFC e oídio em soja com os extratos de *C. longa*, *C. citratus* e *R. officinalis*, este evento provavelmente não esteja relacionado com alguma possível ativação ou indução da atividade de peroxidases e que, possivelmente, outros mecanismos de defesa da planta, ou mesmo uma atividade antimicrobiana direta, possam estar envolvidos no controle destas doenças.

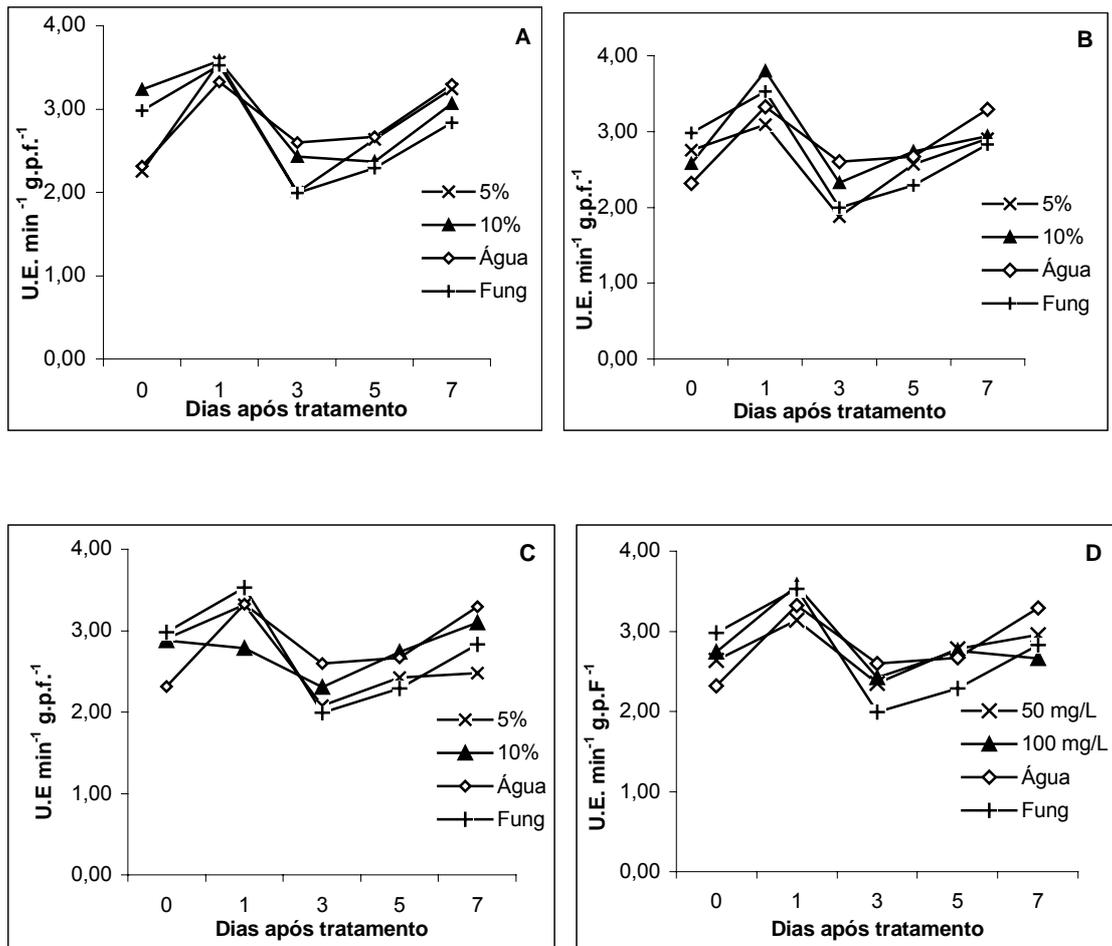


Figura 2. Atividade de peroxidase (U.E. min⁻¹ grama de peso fresco⁻¹) em plantas de soja Cultivar CD 215 tratadas com extrato bruto aquoso de *C. citratus*, *R. officinalis* e *C. longa* e solução de curcumina, em condições de campo, no ano agrícola 2004/2005. **A)** *C. citratus*; **B)** *R. officinalis*; **C)** *C. longa*; **D)** solução de curcumina. Água (—◇—); Fungicida (piraclostrobin + epoxiconazol) (—+—); extratos aquosos a 5% (—x—) e 10% (—▲—); solução de curcumina a 50 (—x—) e 100 mg L⁻¹ (—▲—)

5 CONCLUSÃO

A planta medicinal *C. citratus* apresenta maior atividade antimicrobiana média *in vitro* contra *Cercospora kikuchii*, inibindo o crescimento micelial deste fungo fitopatogênico.

Extrato bruto aquoso de *Rosmarinus officinalis* e *Curcuma longa* conferem proteção em soja contra doenças de final de ciclo (*Cercospora kikuchii* e *Septoria glycines*) e oídio (*Microsphaera diffusa*), resultando em ganhos de produtividade.

A proteção conferida contra doenças de final de ciclo e oídio em plantas de soja por extratos aquosos de *R. officinalis* e *C. longa* não envolve a ativação de peroxidases.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGRIANUAL. Anuário da Agricultura Brasileira. São Paulo: FNP Consultoria & Comércio. 2005. 520 p.

ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; YIRINORI, J. T.; SILVA, J. F. V.; HENNING, A. A. Doenças da Soja In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual de Fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas**. São Paulo: Ed Agronômica Ceres. 1997. v. 2. p. 642-664.

ANDREI, E. **Compêndio de Defensivos agrícolas – Guia prático de produtos fitossanitários para uso agrícola**. 6ª ed. Volume II, Complemento da Atualização – 2003 São Paulo: Andrei Editora, 2003. 302 p.

AZEVEDO, L. A. S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo. 1998. 90 p.

BALBI-PEÑA, M. I. **Efeito do extrato do rizoma de *Cúrcuma longa* e solução de curcumina em *Alternaria solani* e controle de pinta preta em tomateiro**. Marechal Cândido Rondon, 2005. 50 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Estadual do oeste do Paraná – UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon.

BALDO, M.; STANGARLIN, J. R.; SORNBERGER, A.; GRISA, S.; ECKSTEIN, B.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Potencial do extrato bruto de *Cymbopogon citratus* (capim limão) e *Cymbopogon nardus* (citronela) no controle *in vitro* de *Cladosporium fulvum* do tomateiro. **Anais da III Jornada Científica da Unioeste**. Marechal Cândido Rondon, junho de 2005.

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

BECKER, A. **Controle alternativo de doenças do pepino produzido em cultivo orgânico e protegido**. (Trabalho de Conclusão de Curso). Marechal Cândido Rondon. Universidade Estadual do Oeste do Paraná – Unioeste. 2003

BENINI, P. C.; CARVELLI, E.; CRUZ, M. E. S.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J.R. Ação do óleo essencial e extrato aquoso de *Ocimum* sp., coletado em distintas épocas do ano, sobre *Phytophthora* sp. e *Rhizoctonia solani*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, suplemento, agosto 1999. p. 267.

BOKERT, C. M.; YORINORI, J. T.; CORREA-FERREIRA, B. S.; ALMEIDA, A. M. R.; FERREIRA, L. P.; SFREDO, G. J. **Seja o Doutor da Sua Soja**. Piracicaba: Potafos, 1994. 16p. (Informações agronômicas, 66).

BONALDO, S. M.; CRUZ, M. E. S.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Potencial das ervas medicinais capim limão (*Cymbopogon citratus*) e eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) no controle de fungos fitopatogênicos. **Summa Phytopathologica**. v.23. n.1. 1999. p. 39.

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; SATNGARLIN, J. R.; TESSMANN, D. J.; SCAPIN, C. A. Fungitoxidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**. v. 29, n.2. 2004. p. 179-184.

BONATTI, P. M. ; LORENZINI, G.; FORNASIERO, R. B.; NALI, C. SGARBI, E. Cytochemical detection of cell wall bound peroxidase in rust infected broad bean leaves. **Journal of phytopathology**. Berlin, n. 140, 1994. p. 319-325.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. Efeito das folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**. v. 29 n. 3. 2003. p. 262-265.

CECÍLIO FILHO, A. B. **Época e densidade de plantio sobre a fenologia e rendimento da cúrcuma (*Cúrcuma longa* L.)**. Lavras MG, 1996. 100 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) Universidade Federal de Lavras.

CECÍLIO FILHO, A. B.; SOUZA, R. J. de; BRAZ, L. T.; TAVAREA, M. Cúrcuma: medicinal, condimentar e outros potenciais. **Ciência Rural**. Santa Maria v. 30, n. 1. 2000. p. 171-175.

CIBA. CGA 245704. A Plant Activator for Disease Protection. **Basel, CIBA** Technical Data Sheet. 9 p. 1995.

COOK, R. J. e BAKER, K. F. The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens. **St. Paul: APS Press**. 1983. 539p.

CORRÊA JÚNIOR, C; MING, L. C. e SCHEFFER M. C. **Cultivo de Plantas Medicinais, Condimentares e Aromáticas**. FUNEP. Jaboticabal. 1994. 162p.

CORREA, A. D.; SIQUEIRA-BATISTA R. e QUINTAS, L. E. M. **Plantas Medicinais do Cultivo à Terapêutica**. Editora Vozes. 1998. 246p.

CURCUMA, **Cúrcuma**. Disponível em: <<http://www.tomdaservas.com.br/acafrao.html>>. Acesso em: 05 fevereiro 2003.

DHINGRA, O. D.; COSTA, M. L. N.; SILVA JUNIOR, G. J.; MIZUBUTI, S. G. Essential oil of mustard to control *Rhizoctonia solani* causing seedling damping off and seedling blight in nursery. **Fitopatologia Brasileira**. v. 29 n. 6. 2004. p. 683-686.

DHINGRA, O. D.; SINCLAIR, J. B. **Basic plant pathology methods**. 2 ed. CRC Press-Lewis Publishers. 1995.

EMPRESA BRASILEIRA DE PEQUISA AGROPECUÁRIA – Centro Nacional de Pesquisa de Soja. **Tecnologias de Produção de Soja - Paraná**. Londrina, 2004. 224 p.

FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Atividade antifúngica e indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana* por *Artemisia camphorata*. **Acta Scientiarum**. Maringá. v. 25. n. 2. 2003. p. 503-507.

FRANZENER, G.; VIGO, S. C.; STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S. Potencialização da atividade fungitóxica e elicitora de fitoalexinas do extrato aquoso de cânfora com a incorporação de antioxidante. **XXIV Congresso Paulista de Fitopatologia**. Piracicaba/SP, 06 a 08/02/2001. **Anais**, p.20.

FRIC, F. Oxidative enzymes. In: HEITEFUSS, R.; Williams, p. h. (Ed.). **Physiological Plant Pathology**. Berlin. Springer. 1976. p. 617-631.

FRY, S.C. Cross-linking of matrix polymers in the growing cell wall of angiosperms. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, n. 37: 1986. p. 165-186.

GASPAR, T. H.; PENEL, C.; HORPE, T.; GREPPIN, H. **Peroxidases 1970-1980**. Genova, Universidade de Genova, Centro de Botanique, 1982. 324 p.

GASPARINI, M. D. G.; MORAES, L. M.; SCHWAN-ESTRADA, K, R, F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ. M. E. S. Efeito do extrato bruto de *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* em fungos fitopatógenos. Anuário CCA/UEM, 2000 (www.cca.uem.br/capanuario.htm).

GOODMAN, R. N.; KIRÁLY, Z.; WOOD, K. R. **The biochemistry and physiology of plant disease**. Columbia. Iniversity of Missouri press. 1986. 433p.

GUERRA, M. de S. **As Plantas, suas Propriedades Fitofarmacológicas e seus Empregos na Terapêutica Vegetal**. Editora Embrater. 1995. 166p.

HAMAWAKI, O. P.; JULIATTI, F. C.; SHIGIHARA, D.; SOUZA, M. P. de; SANTOS, M. A. dos. Correlação das doenças de final de ciclo, oídio e míldio em função de diversas densidades de plantio em soja na região de Uberlândia - Mg. **Fitopatologia Brasileira**. v. 28, suplemento, 2003. p. 299.

HAMMERSCHMIDT, D. e DANN, E. K. Induced Resistance to Disease. In: RECHCIGL, N. A.; RECHCIGL, J. E. (Ed.) Environmentally Safe Approaches to Crop Disease Control. **Boca.Raton: CRC – Lewis Publishers**, 1997. p. 177-199.

HAMMERSCHMIDT, R.; NUCKLES, E. M.; KUC, J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*. **Physiological Plant Pathology**. v.20. 1982. p. 73-82.

HERTWIG, I. F. G. **Plantas Aromáticas e Medicinais**. Editora Ícone São Paulo – SP. 1986. 449p.

HOAGLAND, R. E. biochemical responses of plants pathogens. In: HOAGLAND, R. E. (ed.). **Microbes and Microbial Products as Herbicides**. Washington, American Chemical Society, 1990. p. 87-113.

ISHIGE, F.; MORI, H.; YAMAZAKI, K.; IMASEKI, H. Identification of a basic glycoprotein induced by ethylene in primary leaves of azuki bean as a cationic peroxidase. **Plant Physiology**, Lancaster, n. 101, 1993. p. 193-199.

JOHAL, C. S.; GRAY, J.; GRUIS, D.; BRIGGS, S. P. Convergent insights into mechanisms determining disease and resistance response in plant-fungal interactions. **Canadian Journal Botany**. V. 73 (Supl.1). 1995. p. S468-S474.

JULIATTI, F. C.; JULIATTI, F. CRISTINA; CARDOSO, M. F. G.; HAMAWAKI, O. T.; TUTIDA, A. Controle químico de doenças foliares em soja pelo estágio de aplicação, cultivar e fungicidas. **Fitopatologia Brasileira**. v. 28, suplemento, agosto 2003. p. 274.

KIM, M. K.; CHOI, G. J.; LEE, H. S. Fungicidal property of *Curcuma longa* L. rhizome-derived curcumin against phytopathogenic fungi in a greenhouse. **J. Agric. Food Chem.** v. 51. 2003. p.1578-1581.

KIMATI, H. Controle químico. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de Fitopatologia – princípios e conceitos**. São Paulo. Editora Ceres. 1995. p. 761-785.

KORTEKAMP, A.; ZYRPRIAN, E. Characterization of *Plasmopara* – resistance in grapevine using *in vitro* plants. **Journal Plant Physiology**. v. 15. 2003. p. 1393-1400.

KUC, J. Systemic Induced resistance. In: WALTERS, D. R.; SCHOLLES, J. D.; BRYSON, R. J.; PAUL, N. D. e McROBERTS, N. (Ed.). **Aspects of Applied Biology 42: Physiological Responses of Plants to Pathogens**. Dundee: Association of Applied Biologists. 1995. p. 235-242.

KUHN, O. J. **Efeito do extrato aquoso de cúrcuma (*Curcuma longa* L.) em *xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis***. 2003. 41f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon.

LUSSO, M, F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**. v. 25. 1999. p. 244-249.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. N. de.; CASTELLANI, D. C. e DIAS, J. E. **Plantas Medicinais**. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa. MG. 1994. 220p.

MARTINS, L. A.; PRESTES, S. J. N.; BEGLIOMINI, E. Eficácia do fungicida Pyraclostrobin + Epoxiconazole no controle da Ferrugem da Soja. **Fitopatologia Brasileira**. v. 28, suplemento, agosto 2003. p. 322.

MARTINS, M. C.; GUERZONI, R, A.; CÂMARA, G. M. S.; MATTIAZZI, P.; LOURENÇO, S. A.; AMORIM, L. Escala diagramática para quantificação do complexo de doenças foliares de final de ciclo em soja. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, n.2. 2004. p. 179-184.

MISAGHI, I. J. **Physiology and Biochemistry of Plant-pathogen Interactions**. Plenum Press. 1982. 286p.

MORAES, W. B. C. Controle alternativo de fitopatógenos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. Brasília, v. 27, s/n, 1992. p. 175-190.

NAWAR, H. F.; KUTI, J. O. Weyerone acid phytoalexin synthesis and peroxidase activity as markers for resistance of broad beans to chocolate spot disease. **Journal of Phytopathology**. v. 151(10), 2003. p. 564. Abstract.

NOZAKI, M. H.; HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S.; BERNARDO, R.; STANGARLIN, J.R. *Rosmarinus officinalis* no controle de fitopatogênicos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, suplemento, agosto 1999. p. 311.

PASCHOLATI, S. F. e LEITE, B. Hospedeiro: Mecanismos de Resistência. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. e AMORIM, L. (Ed.). **Manual de Fitopatologia – Princípios e Conceitos**. São Paulo. Ed Agronômica Ceres. 1995. v. 1. cap. 22. p 417-454.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência à doenças. In: LUZ, W. C. (Ed.). **Revisão Anual de Patologia de Plantas**. Passo Fundo, v. 2, 1994. p. 1-52.

PEREIRA, A. S.; STRINGHETA, P. R. Considerações sobre a cultura e processamento do açafrão. **Horticultura Brasileira**. Brasília v. 17 n. 3, novembro de 1998. p. 102-105.

RAJA, J.; KURUCHEVE, V. Influence of plants extract and buffalo urine on the growth and sclerotial germination of *Macrophomina phaseolina*. **Indian Phytopathology**. v.51. n.1. 1998. p.102-103.

RIDE, J. P. Cell walls and other structural barriers in defence. In: CALLOW, J.A (ed.). **Biochemical plant pathology**. Chichester, John Wiley & Sons, 1983. Cap. 11.

RODRIGUES, E.; **Atividade antimicrobiana in vitro, indução de peroxidase e controle de *Sclerotinia sclerotiorum* em alface cultivado organicamente pelo uso de extrato de gengibre**. (Tese de Mestrado). Maringá – UEM. 2004.

ROESSING, A. C.; GUEDES, L. C. A. Aspectos econômicos do complexo soja: sua participação na economia brasileira e evolução na região do Brasil central. In: Arantes, N. E.; Souza, P.I.M. **Cultura da Soja nos Cerrados**. Piracicaba, 1993. Potafos, p.1-51.

SAJU, K. A.; VENUGOPAL, M. N.; MATHEW, M. J. Antifungal and insect-repellent activities of essential oil of turmeric (*Curcuma longa*). **Current Science**. v.75. n.7. 1998. p.660-662.

SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. da S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**. v. 28, suplemento, agosto 2003. p. 54-56.

SILVA, I.; FRANCO, S. L.; MOLINARI, S. L.; CONEGERO, C. I.; MIRANDA NETO, M. H.; CARDOSO, M. L. C.; SANTIANA, D. M. G.; IWANKO, N. S. **Noções Sobre o Organismo Humano e Utilização de Plantas Mediciniais**. Cascavel: Assoeste. 1995. 203p.

SIMÕES, C. M. O.; MENTZ, L. A.; SCHENKEL, E. P.; IRGANG, B. E.; STEHMANN, J. R. **Plantas da Medicina do Rio Grande do Sul**. 3º Ed. Porto Alegre. Editora Universidade UFRGS. 1989. 174 p.

SINGH, G.; SINGH, O. P.; MAURYA, S. Chemical and biocidal investigations on essential oils of some Indian curcuma species. **Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials**. v.45. 2002. p. 75-81.

SINGH, R.; RAI, B. Antifungal potencial of some higher plants against *Fusarium udum* causing wilt disease of *Cajanus cajan*. **Microbios**. v.102. 2000. p. 165-173.

SOUSA NETO, A. M. & ZAGOMEL, J. Eficiência dos fungicidas azoxystrobin e carbendazin aplicados em diferentes épocas no controle de doenças de final de ciclo na cultura da soja. **II Congresso Brasileiro de Soja e Mercosoja 2002**. Foz do Iguaçu, 03 a 06 de junho de 2002. **Resumos**. p. 41.

STANGARLIN, J. R. e PASCHOLATI, S. F. Proteção de Plântulas de Milho Pipoca contra *Exserobolium turcicum* pelo uso de *Saccharomyces cerevisiae*. **Summa Phytopathologica**. v.20. 1994. p.16-21.

STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. e NOZAKI, M. H. Plantas Mediciniais e Controle Alternativo de Fitopatógenos. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**. Ano II, Número 11. 1999. p. 16-22.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**. 3º Ed. Porto Alegre. Artmed Editora. 2004. p. 309-334.

TESKE, M. & TRENTINI, M. M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. 4 ed. Curitiba: Herbarium Lob. Bot. 2001. 317 p.

UZEIKA, R.; FERNANDES, C. D.; ARIAS, S. M. S.; ARIAS, E. R. A.; OLIVEIRA, A. K. M.; ZANDONALE D. Viabilidade do controle de doenças de final de ciclo da soja em Maracaju-MS. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, suplemento, agosto 2003. p. 333-334.

VIGO, S. C. **Controle de *Microsphaeria diffusa* (oídio da soja) pelo uso de tintura vegetal da planta medicinal *Pfaffia glomerata* (ginseng brasileiro)**. Marechal Cândido Rondon, 2002. 29f. Monografia (Curso de Agronomia). Universidade Estadual do oeste do Paraná.

VIGO-SCHULTZ, S. C. **Avaliação da eficácia da tintura etanólica de guoco (*Micania glomerata*) no controle da podridão negra (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) em couve flor.** (Tese de Mestrado). Marechal Cândido Rondon. Universidade Estadual do oeste do Paraná - UNIOESTE. 2004.

YORINORI, J. T. Soja (*Glycine max* (L.) Merrill) – Controle de Doenças. In: VALE, F. X. R. do; ZAMBOLIM, L. **Controle de doenças de plantas grandes culturas.** Viçosa/ MG: UFV. 1997. v. 2. p. 953-1024.

ZADOKS, J. C. The Cost of Change in Plant Protection. **Journal of Plant Protection.** v.9. 1992. p.151-159.