

IONETE HASSE

**QUANTIFICAÇÃO DE *Plasmodiophora brassicae* E USO DE PLANTAS
MEDICINAIS PARA CONTROLE DA DOENÇA.**

Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Orientadora: Prof^a Dr^a Louise Larissa May De Mio

Co-orientador: Prof. Dr Vismar da Costa Lima Neto

CURITIBA

2005

À memória de Maria Lúcia R. Z. da Costa Lima, que amava as rosas e trazia consigo o conhecimento aliado à sabedoria e a bondade e cativava a todos com sua meiguice.

“Memória não morrerá”.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná UTFPR – (antigo CEFET) por possibilitar a oportunidade de realizar o doutorado.

À Universidade Federal do Paraná - Programa de Pós-Graduação em Agronomia-Produção Vegetal pela contribuição e crescimento na minha formação profissional.

Ao Centro de Microscopia Eletrônica da UFPR pelo apoio na preparação do material e pelas fotomicrografias.

À SECRETÁRIA DE AGRICULTURA E ABASTECIMENTO DO PARANÁ - Departamento de Economia Rural - DERAL na pessoa de Baltazar Henrique dos Santos, pelas informações sobre a produção de olerícolas no Paraná.

À EMATER-PR pelas informações a respeito da produção de brássicas, especialmente aos engenheiros agrônomos Inibeto Hamerschmidt, João Carlos Zandoná e o técnico agropecuário Rudinei José Ciocari - EMATER – COLOMBO – PR.

À ASSOCIAÇÃO DOS PRODUTORES AGRÍCOLAS DE COLOMBO-PR - APAC, na pessoa de Cristina Bonin.

À COMEC

À professora Dra Louise Larissa May De Mio por ter me aceitado sob sua orientação num momento tão complicado, pela confiança, pelo apoio, pelas ricas contribuições no presente trabalho, pela dedicação e principalmente pelo carinho.

Ao professor Dr. Vismar da Costa Lima Neto, pelas contribuições, pelo incentivo e apoio.

À professora Dra Lucimeris Ruaro Schuta, pelo estímulo.

Ao Prof. Dr. Cícero Deschamps pelas ricas contribuições.

Aos professores, Dra Beatriz Monte Serrat e Dr. Antonio Carlos Vargas Motta, pelas dúvidas esclarecidas.

Ao Estatístico Nério Aparecido Cardoso, pela colaboração nas análises não paramétricas.

À ilustradora botânica Maria da Penha Passos.

A todos os pequenos produtores de brássicas da Região Metropolitana de Curitiba - PR pela recepção por ocasião das visitas às propriedades, principalmente a Nilson Perin e Carlos França, (Boicininga - Colombo), Heitor N. Juliane (Serrinha - Colombo) e Mario Polli (Bocaiúva do Sul).

Aos funcionários José Benedito, Gilson, Lurdinha, Maria Emilia, Cleia e Lucimara pela dedicação aos serviços prestados.

Simone, bibliotecária do Setor de Ciências Agrárias, pela formatação das referências bibliográficas.

Aos meus pais Lindolfo Augusto Hasse e Hermínia pela confiança, amor e apoio.

Aos meus queridos irmãos, especialmente as minhas irmãs amigas Márcia, Andréia e Adriane pela força e carinho em todos os momentos.

Aos amigos

Lenir, pela amizade verdadeira, pela troca de conhecimento e principalmente por ser responsável por boa parte do meu crescimento profissional e pessoal.

Neiva, pelo carinho, amizade e incentivo.

Sandra, pela amizade, por dividir os momentos bons e difíceis dessa caminhada.

Cristina, pelo carinho e amizade.

Luciene pela força, estímulo e carinho.

“Olhei para este mundo e era como se uma maçã redonda se oferecesse à minha mão, madura dourada maçã de pele de veludo fresco. Como se mãos delicadas me trouxessem um santuário, santuário aberto para o deleite de olhos tímidos e adorantes: assim este mundo hoje a mim se ofereceu....” (Nietzsche)

BREVE BIOGRAFIA

Eu IONETE HASSE, sou a quinta filha de uma família composta por dez filhos, sendo seis homens (um falecido) e quatro mulheres. Meu pai Lindolfo A. Hasse um herói que aos 16 anos perdeu seu pai e sendo o filho mais velho ajudou a minha avó (na época grávida) a criar os outros 5 filhos. Hoje com 71 anos ainda trabalha muito. Minha mãe Herminia T. Hasse também uma heroína, criar nove filhos foi uma tarefa árdua.

Nasci em Pato Branco PR, em 14 de julho de 1964 e tive uma infância feliz, com muito espaço para brincar, pois morávamos em um sítio. Meus brinquedos eram inventados, boneca de pano, cata ventos, bolinha de gude, pular tábua, subir em árvores e sem falar nos carrinhos de rolemã que meus irmãos fabricavam. Também trabalhava muito, pois era tarefa dos mais velhos cuidar dos irmãos menores, e das mulheres limpar a casa e cuidar do jardim.

Em 1985 fui aprovada no vestibular de Ciências com habilitação em Biologia na FACEP- Palmas - PR e em 1989 comecei a dar aulas em escolas Estaduais em Pato Branco - PR e, em 1992 ingressei minha carreira profissional no Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná - CEFET onde atuo até o presente momento. Ingressar no CEFET-PR me possibilitou um crescimento profissional muito significativo, já no segundo ano de CEFET realizei o curso de especialização e, em 1996 fui aceita no mestrado em agronomia na área de solos na Universidade Federal do Paraná. Foi durante o mestrado que entrei em contato com a área de Produção Vegetal por meio da professora Maria Lucia, minha co-orientadora na época. Foi com ela que apreendi a amar a fitopatologia. Em 2001 escrevi para a Professora Maria Lucia e manifestei o meu desejo de realizar o doutorado na linha de pesquisa Manejo em Fitossanidade e Impacto Ambiental e a resposta veio por meio de um e-mail muito carinhoso e que guardo comigo até hoje, com a seguinte frase: “Teremos prazer em tê-la de volta”.

Em 2002 fui aceita e comecei a desenvolver o projeto de pesquisa experimental visando o controle alternativo de uma das principais doenças em brássicas “hérnia das crucíferas” que tantos danos têm trazido aos já sofridos pequenos produtores de olerícola da Região Metropolitana de Curitiba. Em 2004, com o falecimento da professora Maria Lúcia, passei por um momento difícil. Infelizmente ela já não está junto de nós, mas seu exemplo de vida, profissionalismo brilhante e humanidade continuarão vivos. Prossegui o trabalho

contando com a especial atenção e sob a luz do conhecimento dos professores Dr^a Louise Larissa May De Mío e do prof. Dr. Vismar da Costa Lima Neto.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	x
LISTAS DE FIGURAS.....	xii
RESUMO GERAL.....	xiii
GENERAL ABSTRACT.....	xiv
INTRODUÇÃO GERAL.....	01
REVISÃO GERAL.....	04
1.CAPÍTULO I	
EFICIÊNCIA DO MÉTODO DA DILUIÇÃO DO SOLO PARA DETECÇÃO DE	
<i>Plasmodiophora brassicae</i>.....	22
RESUMO.....	23
ABSTRACT.....	24
1.1 INTRODUÇÃO.....	25
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
1.2.1 Características dos solo.....	27
1.2.2.Desenvolvimento das plantas e avaliação da incidência e severidade da doença nos	
diferentes tratamentos.....	29
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
1.4 CONCLUSÕES.....	34
2.CAPÍTULO II	
EFEITO DO PRÉ-PLANTIO COM PLANTAS MEDICINAIS NO CONTROLE DE	
<i>Plasmodiophora brassicae</i>.....	35
RESUMO.....	36
ABSTRACT.....	37
2.1 INTRODUÇÃO.....	38
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
2.2.1 Características do solo.....	40
2.2.2 Infestação do solo com o patógeno.....	41
2.2.3 Cultivo das plantas medicinais.....	41
2.2.4.Desenvolvimento das plantas e avaliação da incidência e severidade da doença nos	
diferentes tratamentos.....	43
2.2.5 Avaliação do potencial ativo do inóculo no solo após realização do experimento de	
2003.....	44
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
2.3.1 Desenvolvimento das plantas.....	45
2.3.2 Incidência e severidade.....	47
2.3.3 Potencial de inóculo de <i>P. brassicae</i> após cultivo das plantas medicinais.....	48
2.4 CONCLUSÕES.....	51
3.CAPÍTULO III	
CONTROLE DE <i>Plasmodiophora brassicae</i> COM CULTIVO E INCORPORAÇÃO	
DE PLANTAS MEDICINAIS.....	52
RESUMO.....	53
ABSTRACT.....	54
3.1 INTRODUÇÃO.....	55

3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	57
3.2.1 Descrição dos experimentos.....	58
3.2.2 Avaliação dos experimentos.....	60
3.2.3 Testes de Fitotoxidez no solo.....	61
3.2.4. Ação alelopática das medicinais na inibição da germinação das sementes das brássicas.....	62
3.2.4.1 Preparo do extrato aquoso.....	62
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
3.3.1 Pré-plantio de medicinais em solo com incorporação da planta toda, com incorporação das raízes e incorporação da massa aérea fresca. Primeiro ciclo.....	63
3.3.1.1 Massa aérea seca.....	63
3.3.1.2 Incidência e Severidade.....	65
3.3.2 Pré-plantio de medicinais em solo com incorporação da planta toda, com incorporação das raízes e incorporação da massa aérea fresca. Segundo ciclo.....	67
3.3.2.1 Massa aérea seca.....	67
3.3.2.2 Incidência e severidade.....	70
3.3.3 Pré-plantio de medicinais em solo não inoculados com <i>P. brassicae</i>	74
3.3.3.1 Massa aérea seca.....	74
3.3.3.2 Testes de fitotoxidez no solo.....	76
3.3.3.3. Ação alelopática das medicinais na inibição da germinação das sementes das brássicas.....	78
3.4 CONCLUSÕES.....	81
4.REFERÊNCIAS.....	82
5.CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	91
ANEXOS.....	92

LISTA DE TABELAS

REVISÃO GERAL

TABELA 1 -	Percentual de agricultores por área, segundo as microrregiões da EMATER-PR 1996.....	05
TABELA 2 -	Principais municípios produtores de brássicas da Região Metropolitana de Curitiba – 2001.....	07
TABELA 3 -	Espécies de plantas medicinais, aromáticas e condimentares adaptadas ao cultivo na Região Metropolitana de Curitiba-PR.....	21

CAPÍTULO I

TABELA 1 -	Características químicas dos solos utilizados nos experimentos de diluição, 2003.....	27
TABELA 2 -	Análise granulométrica dos solos utilizados nos experimentos de diluição em outubro de 2003.....	28
TABELA 3 -	Efeito dos tratamentos sobre a massa aérea fresca de rúcula e sobre a incidência de <i>Plasmodiophora brassicae</i> em dois solos da RMC em Colombo-PR, dezembro de 2003.....	31

CAPÍTULO II

TABELA 1 -	Características químicas dos solos utilizados nos experimentos de pré-plantio com plantas medicinais no controle de <i>Plasmodiophora brassicae</i> em 2003 e 2004.....	40
TABELA 2 -	Características das medicinais utilizadas nos experimentos de pré-plantio para no controle de <i>Plasmodiophora brassicae</i> em rúcula em dois ciclos de cultivo: 2003 e 2004. Curitiba.....	42
TABELA 3 -	Massa aérea fresca de rúcula nos experimentos de pré-plantio de medicinais no controle de <i>Plasmodiophora brassicae</i> em 2003 e 2004.....	45
TABELA 4 -	Incidência e severidade da hérnia das crucíferas em rúcula nos experimentos de pré-plantio de medicinais no controle de <i>Plasmodiophora brassicae</i> em 2003 e 2004.....	48
TABELA 5 -	Incidência e severidade da hérnia das crucíferas em rúcula, em diferentes diluições do solo proveniente do experimento de pré-plantio de medicinais, Curitiba-PR, 2003.....	50

CAPÍTULO III

TABELA 1 -	Características químicas do solo utilizado nos experimentos de pré-plantio com incorporação de plantas medicinais em 2004. Curitiba, PR.....	57
TABELA 2 -	Análise granulométrica do solo utilizado nos experimentos de pré-plantio com incorporação de plantas medicinais em 2004. Curitiba, PR.....	57
TABELA 3 -	Massa aérea seca, incidência e severidade nos experimentos com o pré-	

	plântio de medicinais com incorporação da planta toda, com incorporação das raízes e com incorporação da massa aérea fresca. Primeiro ciclo. Curitiba-PR, 2004.....	66
TABELA 4 -	Massa aérea seca, incidência e severidade nos experimentos com o pré-plântio de medicinais com incorporação da planta toda, com incorporação das raízes e com incorporação da massa aérea fresca. Segundo ciclo - Curitiba-PR, 2005.....	69
TABELA 5 -	Taxa de germinação de rúcula, repolho e couve-flor sob o efeito dos extratos aquosos das espécies medicinais.....	78

LISTAS DE FIGURAS

REVISAO GERAL

FIGURA 1 -	Região Metropolitana de Curitiba-PR e a produção das principais brássicas na microrregião 3, área de agricultura intensiva.....	08
FIGURA 2 -	Ciclo de <i>Plasmodiophora brassicae</i> , agente causal da hérnia das crucíferas.....	11
FIGURA 3 -	Rúcula (<i>Eruca sativa</i>) com galha após 35 dias do plantio (A) e células de tecido da raiz contendo esporos de <i>Plasmodiophora brassicae</i> , isolado de galhas dos experimentos do presente trabalho (B e C).....	12
FIGURA 4 -	Rúcula sadia (A) e raízes da rúcula apresentando galhas (B).....	13

CAPÍTULO I

FIGURA 1 -	Escala de severidade de <i>Plasmodiophora brassicae</i> em rúcula cultivada em casa de vegetação e desenvolvida por HASSE, dezembro de 2003.....	29
FIGURA 2 -	Efeito dos tratamentos de diluição sobre a severidade da hérnia das crucíferas.....	32

CAPÍTULO III

FIGURA 1 -	Massa aérea seca nos tratamentos dos diferentes experimentos de incorporação do material vegetativo das medicinais no primeiro e segundo ciclo, destacando as medicinais que apresentaram os melhores resultados na queda na incidência e severidade da doença hérnia das crucíferas.....	71
FIGURA 2 -	Efeito do pré-plantio de medicinais sobre a massa aérea seca da rúcula cultivada em solo não inoculados com <i>P. brassicae</i> . Curitiba-PR, 2004.....	74
FIGURA 3 -	Efeito das espécies medicinais sálvia, salsa, menta e bardana sobre a massa aérea seca (g) da rúcula, do repolho e da couve-flor.....	77
FIGURA 4 -	Taxa de germinação da rúcula (<i>Eruca sativa</i>) em água destilada(A), em extrato aquoso de salsa nas concentrações 25% (B) e 50% (C).....	79

RESUMO

QUANTIFICAÇÃO DE *Plasmodiophora brassicae* E USO DE PLANTAS MEDICINAIS PARA CONTROLE DA DOENÇA.

A Região Metropolitana de Curitiba (RMC) é um importante centro produtor de hortifrutigranjeiros, baseado na agricultura familiar. Dentre as hortaliças mais produzidas estão as brássicas, tendo como as principais espécies plantadas o repolho, couve-flor, brócolos, couve chinesa e rúcula. Muitas propriedades produtoras da região estão com os solos com alta infestação pelo patógeno *Plasmodiophora brassicae* Woronin, agente causador de hénria das crucíferas. A medida de controle mais recomendada, a calagem, não está sendo suficiente para minimizar os danos. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver uma metodologia capaz de detectar e quantificar o grau de infestação dos solos por *P.brassicae* e testar meios alternativos de controle da hénria das crucíferas. Todos os experimentos da presente pesquisa foram realizados em casa de vegetação da Universidade Federal do Paraná no Setor de Ciências Agrárias, Curitiba – PR entre os anos de 2003 e 2005. No I capítulo, dois solos com histórico da doença, provenientes de áreas distintas de Colombo-PR (Boicingina e Serrinha) foram submetidos a dois experimentos de diluição, utilizando a rúcula (*Eruca sativa* Mill) como planta hospedeira suscetível. O solo de Boicingina apresentou doenças até a diluição 1:32 enquanto que o solo Serrinha apresentou diminuição da severidade da doença a partir da diluição 1:4. No II capítulo, verificou-se o efeito na redução da incidência e severidade da doença como o pré-plantio das espécies medicinais menta (*Menta piperita* L.), alfavaca (*Ocimum basilicum* L.), bardana (*Arctium minus* Hill), calêndula (*Calendula officinalis* L.), cebolinha (*Allium fistulosum* L.), salsa (*Petroselinum hortense* Hoffm) e sálvia (*Salvia officinalis* L.) em dois períodos na redução da doença. A maior massa aérea fresca e menor índice de severidade foram obtidos no experimento de 2003 nos tratamentos com o pré-plantio das medicinais bardana, salsa, menta, alfavaca e cebolinha. No III capítulo verificou-se o efeito do cultivo e da incorporação da massa vegetal das espécies medicinais menta, alfavaca, bardana, calêndula, cebolinha, cavalinha, salsa e sálvia na redução da incidência e severidade da hénria das crucíferas. Testes de alelopatia foram realizados com as espécies medicinais testadas. Os melhores resultados de controle da doença foram obtidos no segundo ciclo de produção da rúcula com as medicinais salvia, salsa, menta e bardana, principalmente no experimento com incorporação das raízes. Testes alelopáticos com extrato aquoso das medicinais que apresentaram melhores resultados de controle foram realizados sob as sementes das brássicas rúcula, repolho e couve-flor sendo que o extrato aquoso das espécies medicinais bardana e menta apresentaram os melhores resultados na taxa de germinação das brássicas de maior importância econômica na região RMC, o repolho e a couve-flor.

Palavras-chave: Rúcula, Hénria das crucíferas e Brássicas.

ABSTRACT

QUANTIFICATION OF *Plasmodiophora brassicae* AND USE OF MEDICAL PLANTS FOR DISEASE CONTROL

The metropolitan region of Curitiba (RMC) is an important vegetable growing center, on family-based agriculture. Among the most important vegetables are brassicas, especially cabbage, cauliflower, broccoli, Chinese cabbage and rudbeckia. The soils of many producing properties in the region are highly infected with the pathogen *Plasmodiophora brassicae* Woronin, the causal agent of clubroot of crucifers. The current control measure is liming that has not been enough to minimize the damages. The present work had as its main objectives the development of a methodology capable of detecting and quantifying the infestation degree of the soils by *P. brassicae* and to test alternative means of control of the clubroot of crucifers. All the experiments were done in the greenhouse of the Setor de Ciências Agrárias of the Universidade Federal do Paraná, in Curitiba, PR, between 2003 and 2005. In the first chapter, two soils with a history of the disease, from two distinct regions (Boicininga and Serrinha) in Colombo, PR, employed in experiments, in whids using rudbeckia (*Eruca sativa* Mill) was used as susceptible host. The soil from Boicininga induced clubroot up to a 1:32 dilution rate, while soil from Serrinha presented a decrease in the severity of the disease starting at a 1:8 dilution rate. In the second chapter, the effects were verified on the incidence and severity of the disease with the pre-planting of the medical plants peppermint (*Mentha piperita* L.), sweet basil (*Ocimum basilicum* L.), burdock (*Arctium minus* Hill), calendula (*Calendula officinalis* L.), spring onion (*Allium fistulosum* L.), parsley (*Petroselinum hortense* Hoffm), and common sage (*Salvia officinalis* L.), over two periods. The largest fresh aerial mass and lowest severity index were obtained in 2003 in the treatments with pre-planting of burdock, parsley, peppermint, sweet basil and spring onion. In the third chapter, the effects were verified on the growing and incorporation of green mass of the medical plants peppermint, sweet basil, burdock, calendula, spring onion, giant horsetail, parsley and common sage in the reduction of the incidence and severity of clubroot of crucifers. Allelopathy tests were performed with the medical species tested. The best results in the disease control were obtained in the second production cycle of rudbeckia, especially with the root incorporation of the medical plants common sage, parsley, peppermint and burdock. Allelopathy tests with aqueous extract from the medical plants that resulted in the best control were done with the seeds of rudbeckia, cabbage and cauliflower, and the aqueous extract from burdock and peppermint showed the best results on the germination rate of the brassicas of major economic importance in the RMC – cabbage and cauliflower.

Keywords: Rudbeckia, Clubroot of crucifers, Brassicas.