

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

MARIANA FABER FLORES

**EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE PODRIDÃO PARDA
(*MONILINIA FRUCTICOLA*) EM PÊSSEGO**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2013

MARIANA FABER FLORES

**EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE PODRIDÃO PARDA
(*MONILINIA FRUCTICOLA*) EM PÊSSEGO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Idemir Citadin
Co-Orientador: Prof. Dr. Idalmir dos Santos

PATO BRANCO

2013

F634e Flores, Mariana Faber.
Extratos vegetais no controle de podridão parda (*Monilinia fructicola*) em
pêssego / Mariana Faber Flores. -- Pato Branco: UTFPR, 2013.
60 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Idemir Citadin
Coorientador: Idalmir dos Santos
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2013.
Bibliografia: f. 47 – 53.

1. Podridão parda. 2. Controle alternativo. 3. *Prunus persica*. 4. *Brassica
napus*. I. Citadin, Idemir, orient. II. Santos, Idalmir dos, coorient. III.
Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação
em Agronomia. IV. Título.

CDD 22. ed. 630

Ficha Catalográfica elaborada por
Suélem Belmudes Cardoso CRB9/1630
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Pato Branco
Gerência de Ensino e Pesquisa
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Dissertação n° **XXX**

USO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA PODRIDÃO PARDA (*Monilinia fructicola*) EM PÊSSEGOS

por

MARIANA FABER FLORES

Dissertação apresentada às . . . horas . . . min. do dia . . . de de 2012 como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – XXX, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. O candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho

Banca examinadora:

Prof. Dr. Amauri Bogo
UDESC

Prof. Dr. Idemir Citadin
UTFPR
Orientador

Prof. Dr. Sergio Miguel Mazaro
UTFPR

Prof. Dr. Idalmir dos Santos
UTFPR
Co-orientador

Visto da Coordenação:

Prof. Dr. André Brugnara Soares
Coordenador do PPGAG

DEDICATÓRIA

Dedico ao meu pai Adriano Gampert Flores e a minha mãe Carla Liani Faber Flores, que sempre acreditaram nos meus sonhos e estiveram comigo em toda esta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus queridos pais, Adriano Gampert Flores e Carla Liani Faber Flores, por todo o apoio e amor que sempre concederam a mim.

Agradeço ao meu irmão Augusto Faber Flores e a minha cunhada Denise Bianchim Gomes com quem eu sempre pude contar .

Agradeço ao meu noivo Fabio Oldoni Pagnoncelli, companheiro de todas as horas que muito me incentivou a sempre continuar esta caminhada.

Agradeço meu orientador Idemir Citadin e o meu co-orientador Idalmir dos Santos, por todo o esforço e dedicação que tiveram com meu trabalho, estando sempre disponíveis para dúvidas e esclarecimentos.

Agradeço aos meus amigos de graduação e de mestrado Danielle Acco Cadarin, Eduardo Beche e Cristiano Lemes pela amizade e companheirismo em todos estes anos e por toda a ajuda prestada a mim.

Agradeço aos meus amigos do laboratório de Fitopatologia Josi, Rubia, Kelly e Alexandre pela ajuda e amizade, saibam que sentirei muita falta daqueles cafés da tarde.

Agradeço a minha amiga e companheira Claudia Aparecida Guginski Piva que tanto me ajudou. Sem ela esta caminhada teria sido muito mais difícil.

Agradeço ao meu colega Daniel Winter Heck pela parceria e por toda a ajuda prestada na realização dos experimentos.

Agradeço aos estagiários de fruticultura Letícia Reis, Gener Penso e Marcos Sachet por toda a ajuda.

Agradeço a CAPES por ter concedido a bolsa de estudos.

Por fim, agradeço a Deus por mais esta etapa que está sendo concluída e por tudo de bom que o Senhor proporciona em minha vida.

RESUMO

FABER FLORES, Mariana. Extratos vegetais no controle de podridão parda (*Monilinia fructicola*) em pêssegos. 60f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

A podridão parda [*Monilinia fructicola* (Winter) Honey] é a doença mais importante na cultura do pessegueiro, causando danos em flores e frutos em pré e em pós-colheita. O uso de agroquímicos na agricultura tem causado riscos à saúde humana e ao meio ambiente. Na busca de métodos alternativos para o controle da podridão parda em pós-colheita foram realizados experimentos com o objetivo de avaliar a eficiência de diferentes extratos vegetais no controle de *M. Fructicola*. Foram realizados dois experimentos *in vitro* e quatro experimentos *in vivo*. No experimento 1, *in vitro*, foi avaliado a porcentagem de germinação de conídios em placa de Elisa, contendo cinco tratamentos, sendo eles, extrato aquoso de canola, alcoólico, maceração, infusão e testemunha com cinco repetições. Para o crescimento micelial foram avaliadas diferentes concentrações (0, 2,5, 5,0, 7,5 e 10%) do extrato aquoso de canola com sete repetições. Os quatro experimentos *in vivo* foram realizados em delineamento inteiramente casualizado, constituído por quatro repetições, representadas por bandejas de plástico contendo cinco frutos. Foram efetuados danos mecânicos na porção equatorial de cada fruto e, em seguida, aplicados os tratamentos (extratos) por meio de imersão. Depois disso, os frutos foram inoculados com uma suspensão de 10^5 esporos mL^{-1} de *M. fructicola* e, após quatro dias, avaliou-se à área lesionada (cm^2) e o número de esporos. No experimento 2 e 3, *in vivo*, foram avaliados os extratos vegetais de canola (*Brassica napus*), guaçatonga (*Casearia sylvestris*), eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) e babosa (*Aloe vera*) em comparação ao controle químico e a testemunha. O experimento 4 constituiu-se em esquema fatorial $3 \times 3 + 1$ testemunha, sendo o fator A constituído pelas espécies de brassicas (canola, repolho e nabiça) e o fator B pelas formas de extração (alcoólica, infusão e maceração). O experimento 5 constituiu-se em um esquema fatorial 3×2 , sendo o fator A constituído pelos tipos de injúrias (furo, raspagem e sem injúrias) e o fator B uso do extrato (com e sem extrato de canola). Os extratos de canola aquoso, maceração e infusão inibiram a germinação de conídios do patógeno e no crescimento micelial o extrato de canola na concentração 10% apresentou o melhor resultado, tanto na primeira avaliação, quanto na segunda, com 78 e 69% de controle, respectivamente. Nos experimentos *in vivo*, todos os tratamentos que foram submetidos ao controle com extrato de canola apresentaram lesões significativamente menores quando comparados com suas respectivas testemunhas. As diferentes formas de extração testadas foram eficientes no controle do patógeno, sendo que para cada espécie houve uma forma de extração que mais se destacou, sendo que para a canola a melhor forma de extração foi por infusão, para a nabiça foi por maceração e para o repolho foi por extração alcoólica. As espécies de brassicas reduziram a produção e a germinação de esporos de *M. Fructicola* em pós-colheita de pêssegos. Os tratamentos submetidos a perfuração (furo) apresentaram-se como uma metodologia eficiente para avaliar a eficiência do extrato de canola.

Palavras-chave: Podridão parda, Controle alternativo, *Prunus persica*, *Brassica napus*

ABSTRACT

FABER FLORES, Mariana. Plant extracts in the control of brown rot in peach 2013. 60f. Dissertation (Master in Agronomy) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal). Technology Federal University of Paraná. Pato Branco, 2013.

The brown rot [*Monilinia fructicola* (Winter) Honey] is the most important disease in peach, causing damage to flowers and fruits in pre and post-harvest. The use of pesticides in agriculture has caused risks to human health and the environment. In the search for alternative methods for control brown rot in postharvest, experiments were performed in order to evaluate the efficiency of different plant extracts to control *M. fructicola*. Two experiments were conducted *in vitro* and four experiments *in vivo*. In the experiment 1, *in vitro*, was assessed the germination of conidia in Elisa plate containing five treatments: aqueous extract of canola, alcoholic, maceration, infusion and control with five repetitions. For mycelial growth were evaluated different concentrations (0, 2.5, 5.0, 7.5 and 10%) of the aqueous extract of canola with seven repetitions. The four *in vivo* experiments were performed in a completely randomized design consisting of four replications, represented by plastic trays containing five fruits each. Mechanical damage were made in equatorial portion of each fruit and then applied treatments (extracts) by dipping. Thereafter, the fruits were inoculated with a spore suspension of 10^5 mL⁻¹ of *M. fructicola*, and after four days, was evaluated the lesion area (cm²) and the number of spores. In experiments 2 and 3, *in vivo*, we assessed the plant extracts of canola (*Brassica napus*), guaçatonga (*Casearia sylvestris*), eucalyptus (*Eucalyptus citriodora*) and babosa (*Aloe vera*) compared to the chemical treatment and the control. The experiment 4 consisted in factorial 3x3 + 1 control, and the factor A consists by the species of brassicas (canola, cabbage and turnip) and factor B the forms of extraction (alcoholic infusion and maceration). The experiment 5 consisted in a 3x2 factorial design, with the factor A consisting of the types of injuries (hole, scraping and without injuries) and factor B using the extract (with and without extract canola). The aqueous extracts of canola, maceration and infusion inhibited conidial germination and mycelial growth. The extract of canola in concentration of 10% showed the best results, both, in the first assessment, as in the second, with 78 and 69% of control, respectively. In the *in vivo* experiments, all treatments were subjected to the control of canola extract showed significantly less damage when compared to their respective controls. The different forms of extraction tested were effective in controlling the pathogen, and for each species there was a way to extract that stood out, and canola for the best extraction was by infusion, for the turnip was maceration and the cabbage was by alcohol extraction. The species of brassicas reduced production and spore germination of *M. Fructicola* in post-harvest peaches. The treatments undergone perforation (hole) presented itself as an effective methodology to evaluate the efficiency of the extract of canola.

Keywords: brown-rot, Alternative Control, *Prunus persica*, *Brassica napus*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1- Efeito do extrato aquoso de canola e das diferentes formas de preparo do extrato de canola (Alcoólico, infusão e maceração), na avaliação da porcentagem de germinação de esporos de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p = 0,005$).....32
- Figura 2- Efeito de diferentes concentrações do extrato de canola sobre o crescimento micelial de *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey, primeira avaliação. UTFPR, Pato Branco-PR, 2012.....34
- Figura 3- Efeito de diferentes concentrações do extrato de canola sobre o crescimento micelial de *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey, segunda avaliação. UTFPR, Pato Branco-PR, 2012.....35
- Figura 4- Efeito do uso de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey em Pós-colheita de pêssegos inoculados por aspersão de 0,2 mL de suspensão de 10^5 esporos mL^{-1} . UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2011.....37
- Figura 5- Efeito do uso de extratos vegetais no controle de *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey em pêssegos inoculados com 20 μL de suspensão de 10^5 esporos mL^{-1} diretamente na área lesionada. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2011.38
- Figura 6- Influência dos diferentes métodos de injúria utilizando extrato de canola como controle no tamanho de área lesionada (cm^2) por *Monilinia fructicola* (Wint) Honey em frutos de Pêssego. *Médias seguidas por letras distintas, maiúscula com e sem canola dentro do mesmo tipo de injúria, e minúscula entre tipos de injúria dentro do mesmo extrato (com ou sem canola), diferem entre si pelo teste de Tukey ($p= 0,05$).....42

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Efeito de formas de extração e espécies de brassicas, cujos extratos foram aplicados em pós-colheita, no tamanho da área lesionada (cm²) causada por *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey em pêssegos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2011.....39
- Tabela 2 – Efeito de formas de extração e espécies de brassicas, cujos extratos foram aplicados em pós-colheita, na produção de esporos (mL⁻¹ x 10⁵) de *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey em pêssegos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2011.....40
- Tabela 3 – Efeito de formas de extração e espécies de brassicas, cujos extratos foram aplicados em pós-colheita, na eficiência de controle (%) de *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey em pêssegos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2011.....41

LISTA DE SIGLAS

ANOVA	Análise da Variância
C.V.(%)	Coefficiente de Variação em percentual
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
IBGE	Instituto brasileiro de geografia e estatística
MI	Miligramas
PAL	Fenilalanina-amônia-liase
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1. A CULTURA DO PESSEGUEIRO	16
2.2 PODRIDÃO-PARDA.....	16
2.2.1 Sintomatologia.....	17
2.2.2 Etiologia e Condições Predisponentes.....	17
2.2.3 Ciclo das Relações Patógeno-Hospedeiro.....	18
2.3 Controle químico.....	18
2.4 MÉTODOS ALTERNATIVOS NO CONTROLE DE <i>Monilinia fructicola</i> (Wint.) Honey E OUTROS FITOPATÓGENOS.....	19
2.4.1 Extratos Vegetais.....	20
2.4.3 Controle de Doenças Utilizando Isotiocianatos: Compostos Derivados de Plantas da Família das Brassicaceas.....	21
2.4.3.1 Utilização de brassicas no controle de fitopatógenos habitantes do solo.....	22
2.4.3.2 Utilização de brassicas no controle de doenças de parte aérea.....	23
2.4.3.3 Utilização de brassicas no controle de doenças de pós-colheita.....	23
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	24
3.1 LOCAL DOS EXPERIMENTOS.....	24
3.2 SELEÇÃO DOS FRUTOS E DESINFESTAÇÃO	24
3.3 DANO MECÂNICO NO FRUTO E INOCULAÇÃO DO PATÓGENO.....	24
3.4 VARIÁVEIS ANALISADAS.....	25
3.4.1 Área Lesionada.....	25
3.4.2 Contagem De Esporos.....	25
3.4.3 Eficiência De Controle.....	25
3.5 INSTALAÇÃO DOS EXPERIMENTOS.....	26
3.5.1 Experimento 1: Efeito do Extrato de Canola na Porcentagem de Germinação de Conídios e no Crescimento Micelial de <i>Monilinia fructicola</i> (Wint.) Honey	26
3.5.1.1 Análises estatísticas.....	27
3.5.2 Experimento 2 e 3: Extratos Vegetais no Controle de Podridão Parda <i>Monilinia fructicola</i> (Wint.) Honey em Pêssego.....	27
3.5.2.1 Preparo dos extratos vegetais.....	27
3.5.2.2 Análise estatística.....	27
3.5.3 Experimento 4: Diferentes Formas de Preparo de Extratos de Brassicas no Controle de <i>Monilinia fructicola</i> (Wint) Honey em Pêssego.....	28

3.5.3.1 Preparo do extrato alcoólico.....	29
3.5.3.2 Preparo do extrato infusão.....	29
3.5.3.3 Preparo do extrato maceração.....	29
3.5.3.4 Análise estatística.....	30
3.5.4 Experimento 5: Diferentes Métodos de Injúrias em Frutos de Pêssego no Controle de <i>Monilinia fructicola</i> (Wint) Honey Com o Uso de Extrato de Canola	30
3.5.4.1 Preparo do Extrato Aquoso de Canola	30
3.5.4.2 Realização das Injúrias no Fruto	31
3.5.4.3 Análise Estatística	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	32
4.1 EXPERIMENTO 1: EFEITO DO EXTRATO DE CANOLA NA PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS E NO CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>MONILINIA FRUCTICOLA</i> (WINT.) HONEY	32
4.2 EXPERIMENTO 2 E 3: DIFERENTES FORMAS DE PREPARO DE EXTRATOS DE BRASSICAS NO CONTROLE DE <i>MONILINIA FRUCTICOLA</i> EM PÊSSEGO... ..	35
4.3 EXPERIMENTO 4: DIFERENTES FORMAS DE PREPARO DE EXTRATOS DE BRASSICAS NO CONTROLE DE <i>MONILINIA FRUCTICOLA</i> (WINT) HONEY EM PÊSSEGO.....	39
4.4 EXPERIMENTO 5: DIFERENTES MÉTODOS DE INJÚRIAS EM FRUTOS DE PÊSSEGO NO CONTROLE DE <i>MONILINIA FRUCTICOLA</i> (WINT) HONEY COM O USO DE EXTRATO DE CANOLA.....	42
5 CONCLUSÕES.....	44
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
APÊNDICES.....	53

1 INTRODUÇÃO

O pessegueiro pertence a família Rosaceae, Subfamília *prunoideae* gênero *Prunus* (L.) e subgênero *Amygdalus*, existindo apenas cinco espécies reconhecidas, mas apenas *Prunus persica* L. Batsch é explorado comercialmente (RASEIRA E NAKASU, 2002; BARBOSA, et al., 1990).

No Brasil a cultura do pessegueiro vem se expandindo tanto em área quanto em produção, devido o crescimento da demanda interna. Entretanto, este crescimento ainda é considerado insuficiente para atender o mercado interno, pois ainda importa-se 21.500 toneladas de frutas frescas e 9.000 toneladas de frutas processadas, sendo que a exportação da fruta *in natura* é praticamente nula, exportando apenas algumas toneladas de compotas (IBRAF, 2012).

O pêssego por ser uma fruta que apresenta alta perecibilidade, pode apresentar perdas pós-colheita de até 50%, devido a ocorrência de vários fatores como, elevada desidratação, perda de firmeza de polpa e podridões pós-colheita, ocasionadas principalmente por fungos como a *Monilinia fructicola* (SANTOS et al., 2007).

A podridão parda é a principal doença de frutas de caroço, sendo responsável por prejuízos nas produções nacional e internacional de pêssegos, nectarinas e ameixas. Esta doença pode ser causada por três espécies de fungo do gênero *Monilinia*, mas no Brasil até o momento a única espécie encontrada foi *M. fructicola* (MAY DE MIO et al., 2004).

As principais regiões produtoras de pêssegos do Sul e Sudeste do Brasil caracterizam-se por chuvas abundantes, alta umidade e temperaturas elevadas durante o ciclo vegetativo da cultura, que favorecem o desenvolvimento da podridão parda, o que induz a aplicações frequentes de fungicidas, desde a florada até a colheita dos frutos, visando controlar o patógeno.

O uso de fungicidas é o método mais utilizado no controle da doença, entretanto, o uso de produtos alternativos eficientes e não tóxicos é um dos grandes desafios da agricultura sustentável, visando um menor efeito sobre o homem e o meio ambiente, destacando que o uso de fungicidas pós-colheita em países da Europa e o Canadá estão proibidos de serem comercializados, aumentando a preocupação em se obter controles alternativos eficientes (TSAO & ZHOU, 2000).

A utilização de substâncias naturais torna os produtos mais atrativos ao consumidor por não apresentar efeito tóxico, além dos benefícios proporcionados à

saúde. Diversos estudos têm demonstrado o efeito inibidor de produtos naturais sobre o desenvolvimento de microrganismos patogênicos (CARVALHO,2009).

Trabalhos desenvolvidos com extrato bruto de algumas plantas têm indicado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, devido sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos (STANGARLIN, 2005). Xiaoyuan et al. (2008) utilizaram extrato de casca de felodendro, aplicada em pré-colheita, para controlar a *Monilinia fructicola* na pós-colheita.

Outras substâncias naturais com ação biocida, entre as quais, alguns óleos essenciais (TSAO; ZHOU, 2000), compostos aromáticos (NERI et al., 2005), eliciadores à base de acibenzolar- S-metil e proteína harpina (DANNER et al., 2008) e moléculas bioativas estão sendo testadas no controle da podridão parda. Neste último grupo de compostos, incluem-se algumas moléculas originadas da hidrólise de glucosinolatos (GLs) como os isotiocianatos (ITCs). Estes, em testes biológicos específicos, tem mostrado forte atividade contra uma ampla gama de patógenos, com resultados promissores em diferentes situações (LAZZERI et al., 1993; DELAGUIS; MAZZA, 1995; MACINI et al., 1997 e 1998; MARI et al., 2008).

Os Glucosinolatos podem ser encontrados em pelo menos 16 famílias de plantas, particularmente nas *Brassicaceas* (FENWICH et al., 1983; FAHEY et al., 2001).

Nesse sentido, extratos de plantas da família das *brassicaceas*, entre elas, canola (*Brassica napus*), nabiça (*Raphanus raphanistrum*) e repolho (*Brassica oleracea*) vem sendo estudadas devido aos promissores resultados já encontrados no controle de doenças, principalmente de fitopatógenos habitantes do solo (PAPAVIZAS & LEWIS, 1971), sendo os resultados ainda escassos na pós-colheita.

Estas plantas apresentam em seu metabolismo secundário alguns compostos, entre eles, os isotiocianatos, que são compostos voláteis. Sabe-se que os isotiocianatos são compostos responsáveis por resultados promissores no controle de doenças em plantas (SULTANA et al., 2002), com resultados bastante satisfatório no controle pós-colheita de podridão parda causada por *Monilinia laxa* (MARI et al., 2008). No entanto, não há relatos na literatura sobre sua ação sobre *M. fructicola* e mais especificamente de canola.

Assim, na busca por produtos alternativos para o controle da *M. Fructicola* no Brasil e de metodologias mais apropriadas para o fruticultor que propiciem controle eficiente da podridão parda, visando redução de custos, do impacto ambiental e dos

riscos à saúde humana, buscou-se com esse trabalho, avaliar a eficiência de diferentes extratos vegetais no controle de *M. Fructicola* em pêssego.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. A CULTURA DO PESSEGUEIRO

O pessegueiro pertence a família Rosácea, subfamília Prunoidea, gênero *Prunus* (L.), subgênero *Amygdalus*. Todas as cultivares comerciais pertencem às espécies *Prunus persica* L. Batsch.

É uma planta perene, que pode atingir até 10 metros de altura quando conduzida sem podas. Possui raízes pivotantes, que posteriormente se ramificam lateralmente, tornando-se extensas e pouco profundas (EMBRAPA, 2011).

O fruto é uma drupa carnosa, com pericarpo fino, mesocarpo polposo endocarpo lenhoso. A cor da epiderme varia de amarelo a alaranjado, com alguns cultivares apresentando manchas avermelhadas.

A origem do pessegueiro é chinesa, mas por muito tempo se acreditou que o pessegueiro era originário da Pérsia, por isso o seu nome *Prunus persica*. O pessegueiro foi levado provavelmente da China à Pérsia, se espalhou pela Europa e sua introdução no Brasil ocorreu no ano de 1532 (EMBRAPA, 2003).

Os estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná têm as melhores condições naturais para a produção comercial do pêssego, mas é possível produzi-lo em outros estados com o uso de cultivares menos exigentes em frio (EMBRAPA, 2003).

2.2 PODRIDÃO-PARDA

A podridão parda é considerada a principal doença de fruteiras de caroço, tanto na fase de pré-colheita quanto na fase de pós-colheita e pode causar perdas severas, caso as medidas adequadas de controle não sejam tomadas (CARVALHO et al, 2009).

Essa doença se expande rapidamente no pomar, quando esse é acometido por pragas como a Mariposa oriental [*Grapholita molesta* (Busck) (Lepidóptera: Tortricidae)] e mosca das frutas (*Anastrepha fraterculus*), pois esses insetos causam danos nos frutos, abrindo porta de entrada para a *M. fructicola*. (BOTTON, 2003).

Esta doença pode ser causada por três espécies de fungos do gênero *Monilinia*, sendo eles, *M. fructicola* (Wint.) Honey, *M. fructigena* e *M. laxa* (BLEICHER, 1997). No Brasil, a única espécie encontrada até o momento é a *M. Fructicola* (MAY DE MIO, 2004).

2.2.1 Sintomatologia

A floração e a pré-colheita são as fases em que o pessegueiro se encontra mais suscetível a doença, sendo que na fase de floração a mesma se inicia infectando os capulhos florais, acarretando em necrose das anteras, evoluindo para o ovário e pedúnculo. As flores depois de infectadas se tornam marrons e ficam fixadas ao ramo por uma goma. As infecções podem se estender internamente até o ramo, resultando no desenvolvimento de cancrios, anelando-o e conseqüentemente ocasionando a morte da parte terminal.

Com o passar do tempo os frutos infectados tornam-se completamente cobertos de esporos, que contribuem para novas infecções no pomar e os frutos maduros infectados pelo patógeno podem apresentar podridão visível dentro de 48 horas.

Os frutos em fase de maturação com podridão parda apresentam estruturas de frutificação pardas do patógeno, a partir disso o fruto começa a perder água e fica mumificado na planta (MAY DE MIO et al. 2004).

2.2.2 Etiologia e Condições Predisponentes

O fungo *M. fructicola* pertence a classe dos Ascomicetos e apresenta como característica básica a formação de esporos sexuais chamados de ascósporos, dentro de uma estrutura em forma de saco conhecida como asco. Este fungo produz escleródios que garantem a sua sobrevivência no inverno e quando germinam forma apotécios onde são produzidos os ascos. Através dessa estrutura chamada de apotécio, os ascósporos são disseminados principalmente pelo vento e chuva, apresentando o inóculo primário da doença (KRUGNER & BACCHI, 1995).

Nas nossas condições, onde a ocorrência da fase perfeita é rara, o inóculo primário é constituído de conídios formados em cancrios de ramos. Frutos mumificados, quando persistem na planta, não produzem apotécios, mas podem produzir conídios. Conídios

formados em capulhos florais e ramos são disseminados por vento, água e insetos, atingindo os frutos, nos quais podem penetrar diretamente pela cutícula ou por pequenos ferimentos. A colonização do fruto maduro é rápida, formando micélio inter e intracelular (KIMATI, 1997).

Epidemias de podridão parda sempre ocorrem em tempo chuvoso. A temperatura ótima é de 25°C e o período de infecção exige um mínimo de 18 horas a 10°C e de 5 horas a 25°C (KIMATI, 1997).

2.2.3 Ciclo das Relações Patógeno-Hospedeiro

A sobrevivência do fungo de uma safra para outra ocorre em frutos mumificados, nos pedúnculos, nas flores murchas, ramos e cancos. Os conídios são disseminados pelo vento e chuva e poderão servir de inóculo durante toda a fase de crescimento dos frutos e principalmente na fase de maturação germinam rapidamente sob condições favoráveis.

As infecções latentes nos frutos imaturos, normalmente, vêm de flores que sobrevivem à infecção, mas originam frutos contendo o patógeno (MONTEIRO et al. 2004). O fungo pode penetrar pelos estômatos, quando os frutos estão imaturos, e na região da inserção do pêlo, no caso de frutos maduros. A penetração direta pela cutícula também pode ocorrer, porém em baixa frequência.

O que realmente favorece a infecção é a ocorrência de ferimentos, mesmo nos estágios iniciais de desenvolvimento dos frutos, tais como os ocasionados por granizo e insetos (MOREIRA & MAY DE MIO, 2007).

2.3 CONTROLE QUÍMICO

Segundo Fachinello (2001) a doença é favorecida pela alta precipitação pluviométrica, alta umidade relativa do ar e incidência de ventos fortes, condições que ocorrem principalmente na região Sul do Brasil, obrigando o produtor a intensificar o uso de insumos.

O controle químico é o método mais adotado para o controle da podridão parda do pessegueiro a campo (MOREIRA, 2005). De acordo com May de Mio et al. (2004), o controle químico deve iniciar na fase da floração, a qual é extremamente suscetível à entrada do patógeno e, se estender durante todo o ciclo, efetuando também o controle de insetos, a fim de diminuir a quantidade de ferimentos nos frutos.

Os fungicidas devem ser aplicados quando as partes suscetíveis da flor são expostas e, também, preventivamente, antes ou depois da ocorrência de períodos de molhamento e temperatura favorável à infecção. Os agentes químicos podem atuar internamente ou externamente na planta agindo de várias formas, dependendo do seu grupo químico.

Os produtos mais usados no controle químico de *Monilinia fructicola* em pêssegos, em pós-colheita, estão sendo triforine, procimidone, tiabendazole, benomil, tiofanato metílico, mancozeb, dicloran, iprodione, vinclozolin e misturas de benomil com captan (ANDRADE & MATOS, 1996; MOREIRA et al. 2002).

Produtos cujo ingrediente ativo é o azoxystrobin são recomendados para a cultura do pessegueiro, apenas, para o controle de ferrugem (*Tranzschelia discolor*), no entanto, alguns trabalhos, tais como o de Moreira et al. (2002), vêm comprovando a eficácia deste produto no controle de *M. fructicola* em pós-colheita. O produto possui classe toxicológica IV, conferindo baixa toxicidade a humanos, porém apresenta-se como muito perigoso ao meio ambiente (AGROFIT, 2011). Sua aplicação é via foliar com um intervalo de segurança de sete dias (ANVISA, 2010).

2.4 MÉTODOS ALTERNATIVOS NO CONTROLE DE *MONILINIA FRUCTICOLA* (WINT.) HONEY E OUTROS FITOPATÓGENOS

A segurança alimentar dos produtos agrícolas vem sendo muito discutida tanto pelo mercado, quanto por produtores e consumidores, na busca de preservar a saúde humana, reduzir o impacto ambiental e os custos de produção (GONZALOS MORO, 2002).

A quimioterapia, por meio de fungicidas sintéticos, ainda é a principal alternativa utilizada para o controle da podridão parda, porém a necessidade de reduzir a utilização desses produtos, tanto por razões econômicas quanto ambientais aumentou a

procura por novos métodos de proteção fitossanitária (DÖRR, 2010). Os danos à saúde do consumidor com a utilização dos fungicidas convencionais podem ser superlativos quando se trata do controle de doença em pós-colheita e do consumo *in natura*, como é o caso do referido patossistema.

O interesse por métodos que sejam alternativos ao uso de fungicidas aumentou e a pesquisa tem encontrado resultados satisfatórios. Estudos tem sido realizados através do uso do controle biológico a fim de reduzir os problemas causados por *Monilinia*, como por exemplo, o uso de algumas bactérias e leveduras (BONATERRA et al. 2003; KARABULUT et al. 2002).

Substâncias naturais com atividade biocida, como os óleos essenciais pode ser outra alternativa (TSAO e ZHOU, 2000), da mesma forma que os compostos aromáticos (NERI et al. 2005) e de moléculas bioativas que são responsáveis por efeitos fungicidas e são produzidos pelo sistema de defesa de várias plantas. Este último grupo de compostos inclui algumas moléculas que surgem a partir da hidrólise enzimática de glucosinolatos, conhecidos como isotiocianatos.

2.4.1 Extratos Vegetais

Segundo Stangarlin (2005) o uso de extratos vegetais tem mostrado o potencial das mesmas no controle de fitopatógenos, tanto por sua ação fungitóxica direta quanto por alterações fisiológicas na planta.

Diversos estudos estão sendo realizados com a utilização de extratos de plantas, como o extrato de manjerição (SILVA et al. 2009), extrato de alho e capim santo (SOUZA et al. 2007), extrato de melão de São Caetano e eucalipto (CELOTO et al. 2008), extrato de cânfora (FRANZENER, et al. 2003), extrato de cravo da Índia (VENTUROSOSO et al. 2011) e extrato de *Urtica dioica* (LIMA et al. 2008) no controle de doenças de plantas.

Xiaoyuan et al. (2008) avaliaram o potencial do extrato da casca de felodendro, uma erva chinesa usada como remédio para várias doenças humanas, no controle pós-colheita de *M. fructicola* em Pêssego. No trabalho *in vitro* foi observado o efeito inibidor direto sobre o crescimento micelial do patógeno, diminuindo significativamente com o aumento das concentrações do extrato. Na aplicação do inóculo em pós-colheita, após 72 horas da inoculação, o diâmetro da lesão era de 17,3 mm na

concentração de 21 mg mL⁻¹ do extrato contra 51,4 mm da testemunha. Pulverizações pré-colheita, na planta, também reduziram o dano da doença em pós-colheita.

Bonaldo et al (2004) verificaram o potencial do extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora* no controle alternativo de antracnose em pepino, autoclavado ou não autoclavado, em diferentes concentrações e observaram que houve inibição total na germinação de esporos e formação de apressórios de *Colletotrichum lagenarium* em concentrações de 20% do extrato aquoso autoclavado. Para o extrato não autoclavado em concentração de 25% a germinação de esporos foi inibida em 75% e a formação de apressórios foi totalmente inibida com extrato aquoso de 15%.

Bonaldo et al. (2007) também verificaram o efeito inibitório de diferentes concentrações do extrato bruto de *E. citriodora* sobre os fungos *R. solani*, *S. rolfsii*, *C. Sublineolum*, *Phytophthora sp* e *A. Alternata*. A partir de 20% da concentração do extrato bruto, todos os fungos apresentaram inibição do crescimento micelial, sendo que *Phytophthora spp.* e *C. sublineolum* apresentaram os melhores resultados.

Albach (2008) evidenciou a inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* em 13,9% e 18,9% utilizando extratos de guaçatonga na concentração de 25 e 50%, respectivamente. No mesmo trabalho, o crescimento de *Pythium spp.* foi reduzido de forma proporcional à concentração utilizada, sendo que 5% do extrato inibiu o crescimento do micélio em 19,7%, enquanto que o extrato de 50% controlou o patógeno em 59,1%.

2.4.3 Controle de Doenças Utilizando Isotiocianatos: Compostos Derivados de Plantas da Família das Brassicaceas

As brassicas possuem em seus tecidos compostos oriundos do metabolismo secundário das plantas. Um destes compostos produzidos são chamados de glucosinolatos (DUNCAN, 1991; BOREK, 1994)

De acordo com Fahey et al. (2001) & Oerlemans et al. (2006), mais de 120 glucosinolatos já foram identificados. Estes compostos apresentam diferentes estruturas, sendo classificados como hidrocarbonetos alifáticos, aromáticos, e heterocíclicos glucosinolatos (BERNARDI, 2003).

As brássicas produzem também a enzima mirosinase, que é responsável pela hidrólise dos glucosinolatos em gases. Esta reação só ocorre quando há ruptura do

tecido, entretanto, quando a mirosinase e os glucosinolatos entram em contato ocorre a formação e liberação dos gases, dentre eles, isotiocianatos, nitrilas, tiocianatos, entre outros (FENIGUERRA, 2001; MORRA; BOREK, 2010).

De acordo com Manici et al. (1998) os isotiocianatos são os compostos que mais apresentam efeitos sobre os fitopatógenos de solo.

Devido ao fato destes compostos serem substâncias voláteis, estes gases (vapor) podem ser utilizados como tratamentos em frutas ou vegetais antes do armazenamento ou em embalagens com atmosfera modificada (MARI et al. 2008).

De acordo com Sultana et al. (2002) a quantidade de isotiocianatos produzida pelas brassicas depende da espécie, com isso ainda é necessário maiores estudos sobre a influência dos tratos culturais, épocas e local de plantio, pois tudo isso pode interferir na quantidade produzida destes compostos.

2.4.3.1 Utilização de brassicas no controle de fitopatógenos habitantes do solo

Neves et al. (2007) estudaram espécies de brássicas no controle de *Meloidogyne javanica* Göeldi na cultura do tomate. Os materiais orgânicos foram incorporados ao solo, com posterior cobertura plástica das unidades experimentais, reduzindo o número de galhas em 61,3; 60,8 e 46,8 %, quando utilizadas couve-flor, brócolis e mostarda, respectivamente. Além disso os autores observaram que somente com a incorporação dos resíduos no solo, o número de ovos foi inferior ao tratamento testemunha em todos os tratamentos, confirmando o potencial do uso desses resíduos no controle do *M. javanica*, por meio da biofumigação.

Moccellin (2011), em experimento *in vitro* utilizando pó de canola em doses crescentes, observou redução no crescimento micelial de *Pythium aphanidermathum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*. No mesmo experimento, com a incorporação de repolho e canola ao solo, o controle de doenças ocasionadas por *Pythium aphanidermathum* em pepino foi significativo, reduzindo o número de plantas tombadas.

Papavizas (1966) e Papavizas e Lewis (1971), em estudos realizados no controle de podridão radicular de ervilhas (*Aphanomyces*), encontraram que o uso de folhas secas e caules de repolho (*Brassica oleracea* L. var. Capitata L.), couve (*Brassica oleracea* L. var. Acephala DC.), mostarda (*Brassica nigra* L.) e nabo (*Brassica rapa* L.)

reduziu a podridão da raiz de ervilha quando incorporados em solos infestados com este patógeno.

Em estudos realizados por diversos autores obtiveram resultados positivos com o uso de diferentes espécies de brassicas como em trabalhos realizados com *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* Walker e *R. solani* (KIRKEGAARD; WONG; DESMARCHELIER, 1996), *Macrophomina phaseolina* Goid (LODHA, SHARMA e AGGARWAL, 1997), *P. aphanidermathum* (FAN et al. 2005), *S. rolfsii* (SILVA et al. 2007).

2.4.3.2 Utilização de brassicas no controle de doenças de parte aérea

Pasini et al. (2007) testaram a eficiência de alguns produtos alternativos no controle de oídio em rosas, entre eles o óleo de canola, obtendo controle satisfatório.

2.4.3.3 Utilização de brassicas no controle de doenças de pós-colheita

Mari et al. (2002) observaram que pêras tratadas por 24 horas à temperatura ambiente com uma atmosfera enriquecida de isotiocianato de alil, produzido a partir da farinha desengordurada de *Brassica juncea*, apresentou controle satisfatório do mofo azul (*Penicillium expansum*), apresentado-se como uma alternativa economicamente viável aos fungicidas contra este fitopatógeno.

Mari et al. (2008) realizaram estudos de cinco diferentes tipos de isotiocianatos, entre eles, benzil, butenil, alil, feniletil, metiltiobutil com o intuito de determinar a concentração mais eficaz de cada um. Em ensaios *in vivo* em nectarinas e pêssegos. Entre os cinco isotiocianatos testados, apenas Butenil e Alil reduziram a doença. No entanto, quando se utilizou biofumigação a partir de farinha desengordurada de *Brassica carinata* e *Brassica rapa*, a inibição da podridão parda produzida pelos isotiocianatos Butenil e Alil foi quase a mesma, com 89,5 e 86,9% para as nectarinas e 100 e 86,2% para os pêssegos. Além disso, os resultados dos ensaios *in vivo* indicam de 3 a 6 horas como o tempo de exposição ótimo da fruta nos vapores de isotiocianatos para se obter o melhor controle do agente patogênico.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos realizados tiveram metodologias em comum que estão escritas abaixo do item 3.1 ao 3.4.

3.1 LOCAL DOS EXPERIMENTOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. Utilizou-se frutos colhidos em plantas de pessegueiro com 8 anos, cultivadas no espaçamento 4x6 m, no sistema de condução tipo taça, sem aplicação de fungicidas em intervalo de 30 dias antes da colheita.

3.2 SELEÇÃO DOS FRUTOS E DESINFESTAÇÃO

Os frutos foram colhidos maduros e transportados para o laboratório de Fitopatologia da UTFPR, onde foram selecionadas por uniformidade de tamanho, firmeza e cor, e por ausência de injúrias e infecções visíveis. Em seguida, os frutos foram submetidos a desinfestação superficial, com imersão em solução de hipoclorito de sódio a 0,5%, por 3 minutos, permanecendo por 10 minutos sobre a bancada, para secagem.

3.3 DANO MECÂNICO NO FRUTO E INOCULAÇÃO DO PATÓGENO

Os frutos receberam ferimentos mecânicos com o auxílio de um perfurador esterilizado com 1,8 mm de diâmetro e 1 cm de profundidade, danificando a área na porção equatorial, em dois lados opostos (DANNER et al. 2008).

Os frutos foram inoculados após 30 minutos de terem recebido os ferimentos mecânicos, com aproximadamente 0,2 ml da suspensão de esporos, na concentração de 10^5 esporos mL⁻¹. O inóculo de *M. fructicola* foi obtido a partir de culturas puras isoladas de frutos contendo o patógeno, mantidas em meio de cultura BDA em placas de Petri em uma sala de crescimento a 24°C, condições estas necessárias para o crescimento do patógeno.

Em seguida, os frutos foram acomodados em anéis de policloreto de vinila (PVC) de 50 mm de diâmetro e 2 cm de altura. Esses anéis foram colocados sobre papel toalha umedecida dentro de bandejas plásticas com tampa e estas foram acondicionadas em sala de crescimento a 24° C. Após 96 horas da aplicação dos tratamentos, foi feita a avaliação do tamanho da área lesionada pelo patógeno e a contagem de esporos.

3.4 VARIÁVEIS ANALISADAS

3.4.1 Área Lesionada

Para a avaliação da área lesionada por *M. fructicola* na superfície dos frutos, mediram-se quatro raios, a partir do centro da lesão, nas direções superior, inferior, direita e esquerda, com auxílio de um paquímetro digital. O raio médio, mensurado nos dois lados do fruto, foi utilizado para o cálculo da área superficial lesionada. Pelo fato de as áreas lesionadas terem sido praticamente circulares, utilizou-se a fórmula-padrão para cálculo da área do círculo: $A = \pi r^2$, em que: A = área superficial acometida pela infecção; π = constante (3,1416); r = raio médio da lesão superficial (DANNER et al. 2008).

3.4.2 Contagem De Esporos

A contagem de esporos foi efetuada em todos os frutos de cada repetição, pela raspagem em área de 1 cm² no centro da lesão, com auxílio de um estilete. Em seguida, o estilete foi mergulhado num frasco com 10 mL de água destilada esterilizada, para formar uma suspensão de esporos. Para se determinar a concentração de esporos da suspensão, foi utilizada a câmara de Neubauer.

3.4.3 Eficiência De Controle

A eficiência de controle foi calculada por meio da redução da área lesionada dos frutos tratados com os extratos, em relação aos frutos tratados com água: eficiência (%) = [(valor da testemunha - valor do tratamento)/valor da testemunha] x 100

3.5 INSTALAÇÃO DOS EXPERIMENTOS

3.5.1 Experimento 1: Efeito do Extrato de Canola na Porcentagem de Germinação de Conídios e no Crescimento Micelial de *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey

Para o teste de germinação de conídios foi preparada uma suspensão do inóculo do patógeno na concentração de 10^5 esporos ml^{-1} oriundos de culturas puras com 5 dias.

Alíquotas de 60 μl desta suspensão foram adicionadas em cinco orifícios da placa de Elisa, contendo 200 μl de cada extrato, sendo eles, extrato aquoso, alcoólico, maceração e infusão de canola e mais a testemunha incubada em água destilada, com 5 repetições. A metodologia da realização dos extratos vegetais está descrita no item 3.5.2.1. e 3.5.4.1.

A placa de Elisa contendo os tratamentos foi incubada em BOD (Biochemical oxygen demand) a 25°C sendo analisado a cada trinta minutos a germinação dos esporos. Após 6 horas, quando os esporos já estavam germinados, foram avaliadas as germinações em microscópio óptico. Foram considerados como esporos germinados aqueles que apresentaram tubo germinativo, independente do seu comprimento. O ensaio *in vitro* foi conduzido em câmara de crescimento com temperatura $24 \pm 2^\circ\text{C}$ e fotoperíodo de 12 horas, e foi desenvolvido em placas de Petri com meio de cultura BSA em delineamento experimental inteiramente casualizado com sete repetições por tratamento.

Para o crescimento micelial os tratamentos se constituíram de cinco concentrações do extrato de canola, sendo elas, 0, 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10% em delineamento inteiramente casualizado com sete repetições.

O meio de cultura BSA foi vertido em placas invertidas, ou seja, na tampa. Um disco de 5mm de diâmetro contendo micélio de *M. fructicola*, com 10 dias de idade em BSA, foi transferido para o centro de cada placa (tampa). Um ml de cada tratamento foi transferido para a base das placas, as quais foram vedadas com filme PVC e posteriormente armazenadas.

Foram realizadas duas avaliações, a primeira no 8º dia e a segunda no 13º dia após a realização do experimento, por meio da medição do raio de crescimento dos micélios, com uma régua graduada.

3.5.1.1 Análise estatística

Os dados foram analisados quanto a sua homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett e a sua normalidade pelo teste de Lilliefors. Os conjuntos cujas variâncias se mostraram homogêneas foram submetidas à análise de variância (ANOVA). Quando o resultado do teste F indicou diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p = 0,05$). Os dados, cujas variâncias não foram homogêneas, foram transformados por modelos matemáticos apropriados até tornarem-se homogêneos, para posterior análise de variância e teste de médias (Tukey, $p = 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Genes (CRUZ, 2006).

3.5.2 Experimento 2 e 3: Extratos vegetais no Controle de Podridão Parda *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey

Os ensaios *in vivo* foram realizados em delineamento experimental inteiramente casualizado, com seis tratamentos, quatro repetições e cinco frutos por repetição. Os tratamentos utilizados foram, extrato aquoso de eucalipto (20%), guaçatonga (20%), pó de canola (10%) e extrato bruto de babosa (100%). Para o tratamento do controle químico foi utilizado o ingrediente ativo Azoxistrobin (2g/L). O tratamento testemunha foi constituído apenas por água destilada.

Foram testados diferentes métodos de inoculação, sendo que no experimento 2 a inoculação do patógeno foi realizada com o auxílio de um borrifador manual, aspergindo diretamente na lesão do fruto aproximadamente 0,2 mL de inóculo. Já no experimento 3 o método de inoculação utilizado foi com o auxílio de uma pipeta de precisão, inoculando-se diretamente na lesão 20 μ L da solução do inóculo.

3.5.2.1 Preparo dos extratos vegetais

Para a realização dos extratos as plantas estudadas foram coletadas todas no mesmo horário, entre oito e nove horas da manhã, no mesmo dia em que foram realizados os experimentos e foram utilizados galhos e folhas da parte aérea das plantas. Os extratos aquosos foram obtidos adicionando-se em um liquidificador por 3 minutos,

200 g dos galhos e folhas das plantas em 800 mL de água a fim de obter os extratos a concentração de 20%. Para o extrato de babosa foram retiradas a casca da folha e o tecido muscilaginoso da planta foi batido no liquidificador sem a adição de água obtendo extrato bruto de 100% e apenas para a canola foram pesados 100g do pó da mesma em 900 mL de água obtendo uma concentração do extrato de 10%.

A canola foi cortada rente ao solo e colhida na fase de pleno florescimento, posteriormente a planta inteira foi desidratada e moída utilizando o pó da mesma para a realização dos experimentos. Este pó foi armazenado em sacos plásticos na geladeira.

Os frutos foram imersos nos tratamentos por 20 segundos e o controle químico por 5 segundos.

3.5.2.2 Análises estatísticas

Os dados foram analisados quanto a sua homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett e a sua normalidade pelo teste de Lilliefors. Os conjuntos cujas variâncias se mostraram homogêneas foram submetidas à análise de variância (ANOVA). Quando o resultado do teste F indicou diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p = 0,05$). Os dados, cujas variâncias não foram homogêneas, foram transformados por modelos matemáticos apropriados até tornarem-se homogêneos, para posterior análise de variância e teste de médias (Tukey, $p = 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Genes (CRUZ, 2006).

3.5.3 Experimento 4: Diferentes Formas de Preparo de Extratos de Brassicas no Controle de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey em Pêssego

Este experimento se constituiu de 10 tratamentos e 4 repetições, em esquema fatorial 3 x 3, mais a testemunha não tratada. O fator A foi constituído pelas espécies de brassicas, sendo utilizado a canola (*Brassica napus*), o repolho (*Brassica oleracea*) e a nabiça (*Raphanus raphanistrum*) e o fator B foi constituído pela forma de preparo dos extratos: extração alcoólica, maceração e infusão. A testemunha foi constituída pela imersão dos frutos em água destilada. O genótipo utilizado no experimento foi Atenas.

3.5.3.1 Preparo do extrato alcoólico

Para obtenção deste extrato, 120 gramas de material vegetal de canola, repolho e nabiça desidratados foram imersos em 880 mL de álcool de cereais por 48 horas na ausência de luz. Após este período, foi feita a filtração em papel filtro separando-se a parte sólida da solução. O volume total da solução obtido após a filtração foi de 751 mL para a canola, 734 mL para a nabiça e 741 mL para o repolho. Na sequência foi removido o etanol presente na solução por meio do evaporador rotativo durante 1 hora e 30 minutos a temperatura de 60°C. Depois da rotoevaporação, sobrou 61 mL da canola, 130 mL da nabiça e 115 mL do repolho. O restante do resíduo da evaporação foi diluído em água destilada até completar o volume da solução inicial de 880 mL. A solução apresentou concentração de 12%.

3.5.3.2 Preparo do extrato infusão

Para a preparação da infusão, utilizou-se 880 mL de água destilada a qual foi previamente aquecida até a temperatura de 100°C e logo após adicionada sobre 120 gramas de material vegetal desidratados, deixando-se agir por 20 minutos em recipiente fechado. Na sequência, foi feita a filtração em papel filtro para separação da parte sólida da solução, obtendo-se 810 mL de solução para a canola, 790 mL para a nabiça e 845 mL do repolho a qual foi utilizada como extrato na concentração de 12%.

3.5.3.3 Preparo do extrato maceração

No caso da maceração, triturou-se em liquidificador 120 gramas desidratadas das brassicas, com 880 mL de água fria destilada. Após a trituração deixou-se reservar por período de 8 horas e feita a filtração em papel filtro separando-se a parte sólida da solução, o que permitiu obter 790 mL de solução para a canola, 860 mL para a nabiça e 880 mL para o repolho. Obtendo as soluções na concentração de 12%. Os frutos foram imersos, durante 20 segundos nos respectivos tratamentos.

3.5.3.4 Análises estatísticas

Os dados foram analisados quanto a sua homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett e a sua normalidade pelo teste de Lilliefors. Os conjuntos cujas variâncias se mostraram homogêneas foram submetidas à análise de variância (ANOVA). Quando o resultado do teste F indicou diferença significativa, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ($p = 0,05$). Os dados, cujas variâncias não foram homogêneas, foram transformados por modelos matemáticos apropriados até tornarem-se homogêneos, para posterior análise de variância e teste de médias (Tukey, $p = 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Genes (CRUZ, 2006).

3.5.4 Experimento 5: Diferentes Métodos de Injúrias em Frutos de Pêssego no Controle de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey Com o Uso de Extrato de Canola

O experimento foi conduzido em delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições, representados por bandejas de plástico e constituiu-se em um esquema fatorial 3x2, sendo o fator A constituído pelos tipos de injúrias (furo, raspagem e sem injúrias) e o Fator B uso do extrato (com e sem extrato de canola). A cultivar utilizada no experimento foi Libra.

Neste experimento a única variável analisada foi a área lesionada, pois os tratamentos não apresentaram esporulação.

3.5.4.1 Preparo do Extrato Aquoso de Canola

Para a obtenção do extrato de canola, pesou-se 100g do pó da mesma e misturou-se com 900 mL de água em um liquidificador, onde foram e triturados por 3 minutos, obtendo uma concentração do extrato de 10%.

3.5.4.2 Realização das Injúrias no Fruto

O furo foi realizado com o auxílio de um perfurador esterilizado, danificando a área na porção equatorial, em dois lados opostos, em 1,8 mm de diâmetro e 1 cm de profundidade.

A raspagem procedeu-se com o auxílio de uma lamínula, raspando em dois lados opostos do fruto, caracterizando 2 cm de área.

3.5.4.3 Análise Estatística

Os dados foram analisados quanto a sua homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett e a sua normalidade pelo teste de Lilliefors. Quando os dados não se apresentaram normais e/ou as variâncias não foram homogêneas, estes foram transformados por modelos matemáticos adequados. Atendidos os pressupostos matemáticos os dados foram submetidos a análise de variância ($p \leq 0,05$) e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p = 0,05$), através do programa Genes (CRUZ, 2006).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 EXPERIMENTO 1: EFEITO DO EXTRATO DE CANOLA NA GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS E NO CRESCIMENTO MICELIAL DE *MONILINIA FRUCTICOLA* (WINT.) HONEY

De acordo com os resultados referentes ao efeito das formas de extração para a canola e do extrato aquoso do pó de canola na germinação de conídios de *M. fructicola* (Figura 1), observa-se que a forma de extração alcoólica não diferiu significativamente da testemunha, que apresentaram inibição de apenas 58 e 55 % de esporos germinados, respectivamente. O extrato aquoso de canola e os extratos por infusão e maceração da canola fresca inibiram em 90, 84 e 89%, respectivamente a germinação (Apêndice A).

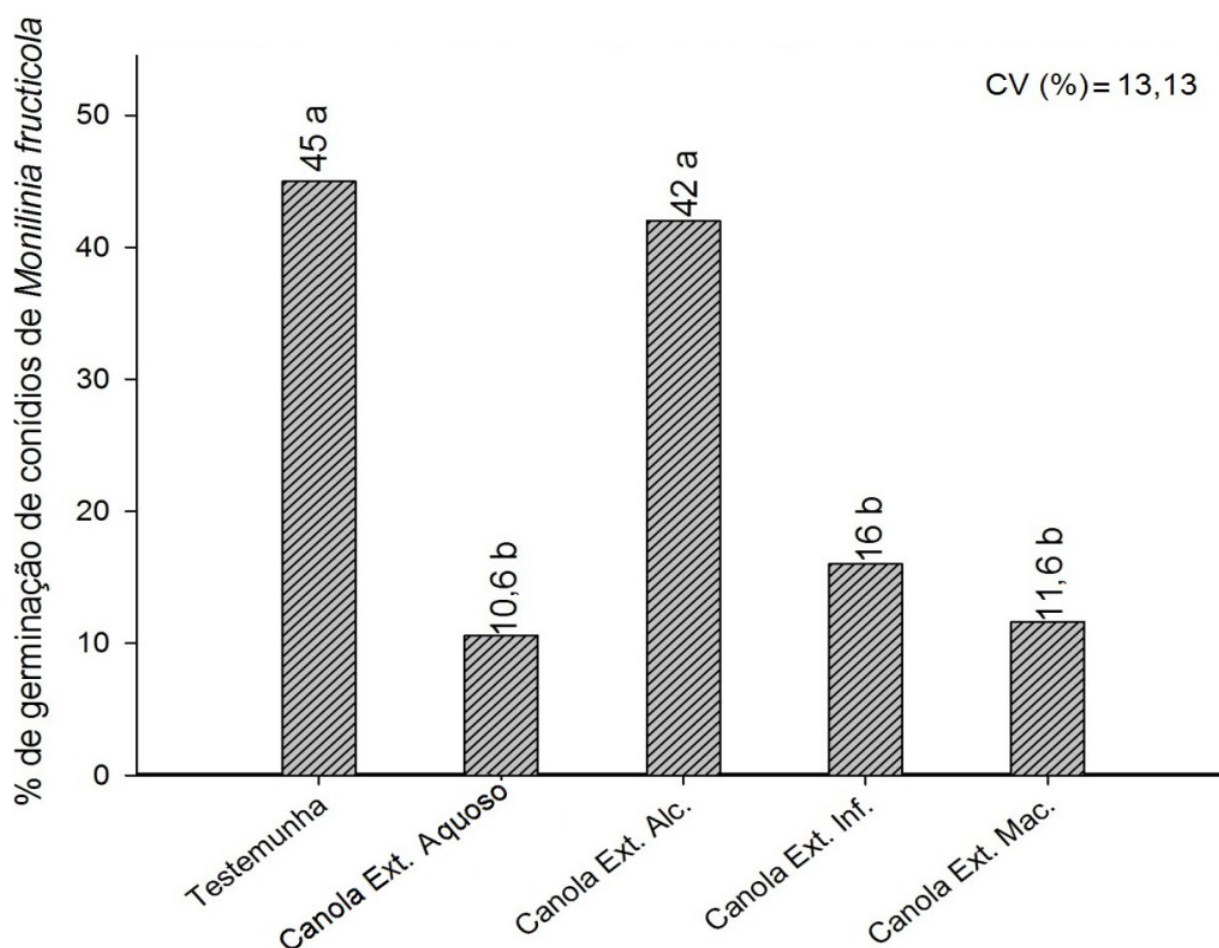


Figura 1 – Efeito do extrato aquoso de canola e das diferentes formas de preparo do extrato de canola (Alcoólico, infusão e maceração), na avaliação da porcentagem de germinação de esporos de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey. Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ($p = 0,005$).

Nos estudos realizados com as moléculas de isotiocianatos Mari et al. (2008) obtiveram resultados satisfatórios no controle de germinação de esporos de *Monilinia Laxa* em pêssegos. Entre os isotiocianatos testados, 4-Metiltiobutil foi o mais eficiente. No que diz respeito à avaliação do tempo de exposição ao efeito do vapor do isotiocianato sobre a germinação de conídios já era evidente depois de 1 hora e meia do contato entre patógeno e gás (isotiocianato) mostrando uma significativa redução da germinação de esporos, em comparação com a testemunha.

Como o extrato aquoso de canola se mostrou eficiente na inibição da germinação de conídios do patógeno, chegando a 90% de controle, realizou-se a avaliação do crescimento micelial utilizando apenas este extrato em diferentes doses.

Para o crescimento micelial, nas duas avaliações realizadas, o extrato de canola promoveu a redução do crescimento micelial de *M. Fructicola*, sendo o efeito supressivo crescente com o aumento das concentrações. No melhor controle obtido (10%) o crescimento micelial foi de apenas 1,37 cm contra 6,29 cm da testemunha, na primeira avaliação, apresentando um controle de 78%, já na segunda avaliação o crescimento micelial foi de 2,67 na dose 10% contra 8,32 cm da testemunha, com um controle de 69% (Figura 2 e 3).

Observa-se, na figura 3, que a testemunha continuou apresentando desenvolvimento, enquanto os outros tratamentos praticamente estabilizaram seu crescimento, comprovando que existem compostos voláteis sendo liberados e agindo diretamente sobre o crescimento do patógeno.

Muitas espécies de brassicas, como é o caso da canola (*Brassica napus*), são conhecidas por apresentarem em seu metabolismo secundário compostos, entre eles, os glucosinolatos, que quando hidrolisados são convertidos em uma variedade de potenciais aleloquímicos, incluindo isotiocianatos e nitrilas (NEVES, et al. 2005). Os isotiocianatos são biocidas voláteis que em testes biológicos específicos mostraram forte atividade sobre vários agentes fitopatogênicos (MARI, et al. 2008).

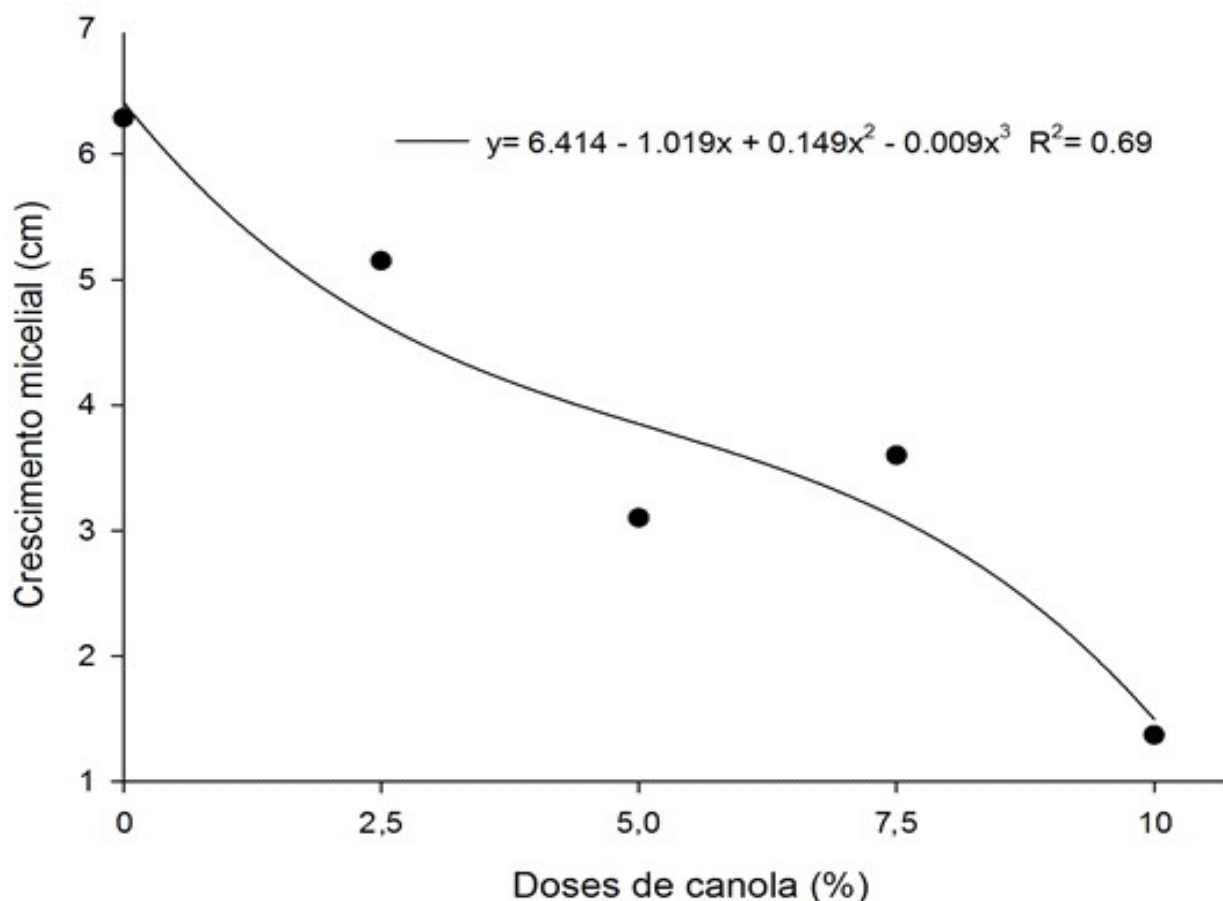


Figura 2. Efeito de diferentes concentrações do extrato de canola sobre o crescimento micelial de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey, primeira avaliação. UTFPR, Pato Branco-PR, 2012.

Vale ressaltar que o extrato de canola foi depositado na tampa da placa de Petri, ou seja, não houve contato direto do extrato com o patógeno, demonstrando que os isotiocianatos inibiram o crescimento micelial de *M. fructicola*.

Moccellin (2011), em experimento utilizando pó de canola em doses crescentes, observou redução no crescimento micelial de *Pythium aphanidermathum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*.

Mari et al (2008) testando diferentes isotiocianatos de brassicas observaram controle dos mesmos no crescimento micelial *in vitro* de *M. laxa*.

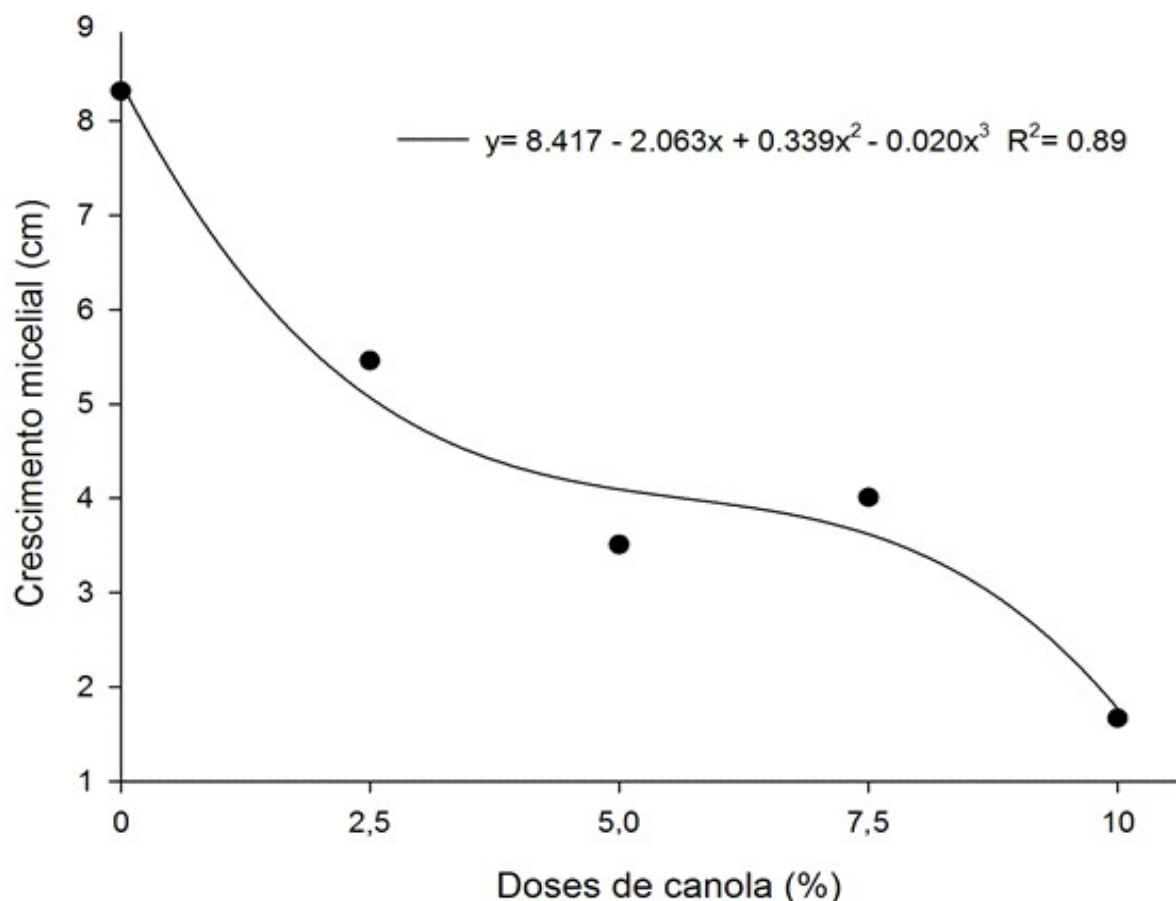


Figura 3. Efeito de diferentes concentrações do extrato do pó de canola sobre o crescimento micelial de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey, segunda avaliação. UTFPR, Pato Branco-PR, 2012.

4.2 EXPERIMENTO 2 E 3: EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE PODRIDÃO PARDA *MONILINIA FRUCTICOLA* (WINT.) HONEY EM PÊSSEGO

Observou-se no experimento 1 (Inóculo borrifado) que o tratamento com extrato de canola não diferiu significativamente do controle químico, que apresentaram eficiência de controle de 88% e 81%, respectivamente, quando comparados com a testemunha.

No experimento 1 e 2 o tratamento com extrato de canola e o controle químico inibiram totalmente a formação de esporos, reduzindo a sobrevivência deste patossistema de um ano para o outro no pomar.

Em estudos anteriores, Balzan et al. (2011), estudando a eficiência de diferentes extratos, entre eles, extrato de canola, obtiveram redução significativa da área lesionada pela doença e inibição da esporulação de *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey em frutos de pós-colheita em pêssego.

A utilização de espécies da família das Brassicaceas, como é o caso da canola (*Brassica napus* L. var. oleifera) vem sendo estudadas devido estas plantas apresentarem compostos do metabolismo secundário que a partir de uma hidrólise enzimática produzem compostos voláteis. Um destes compostos produzidos são os isotiocianatos que apresentam um amplo espectro de atividade biológica e sabe-se que este composto é responsável por resultados promissores encontrados no controle de fitopatógenos, principalmente do solo, como o caso de *Rhizoctonia solani* e *Pythium spp.* (MAZZOLA et al. 2001).

Smolinska e Horbowicz (1999) verificaram que o aumento da inibição da germinação de clamidósporos de *F. oxysporium* var. radialis f. sp. lycopersi, estava relacionado a liberação do isotiocianatopropinil, o qual é produzido pela mostarda, que também é uma espécie da família das brassicas e, segundo Smolinska (2000), também pode ser encontrado em altas concentrações em raízes de canola.

Moccellin (2011), em experimento com biofumigação utilizando o pó de canola, observou redução no crescimento micelial de *Pythium aphanidermathum*, *Rhizoctonia solani* e *Sclerotium rolfsii*.

Fayzalla et al. (2009) observaram o uso de sementes de mostarda para o controle de fitopatógenos causadores de podridões radiculares e murchas em plantas de feijão, em solo infestado com *Fusarium oxysporium*, e observaram redução de 25% no tombamento das plântulas em pré-emergência, seguido de 62,5% de plantas saudáveis, quando comparados com a testemunha. O mesmo pode ser observado para *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina* e *Sclerotium rolfsii* com redução de 42,5, 25 e 30% no tombamento de plântulas, respectivamente.

O uso do extrato de eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) apresentou eficiência média de controle de 39% nos dois experimentos (Figura 4 e 5), todavia resultados observados por Bonaldo et al. (2004) que testaram *in vitro* o uso do extrato bruto de eucalipto contra *Colletotrichum lagenarium* e encontraram que as doses de 5, 10, 15, 20 e 25% o extrato aquoso autoclavado de eucalipto inibiram em mais de 90% a germinação de esporos.

Corroborando com esse resultado, Marques et al. (2008) observaram que o aumento das concentrações do extrato de eucalipto aumentou a inibição do crescimento micelial dos patógenos *M. fructicola* e *Bipolaris sorokiniana*, conseguindo até 100% de inibição utilizando as concentrações de 20 e 30%.

Bonaldo et al. (2007) estudaram o efeito inibitório de diferentes concentrações do extrato de eucalipto sobre os fungos *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora sp.*, *C. sublineolum* e *Alternaria alternata* e concluíram que a partir de 20% da concentração do extrato vegetal, todos os fungos apresentaram inibição do crescimento micelial

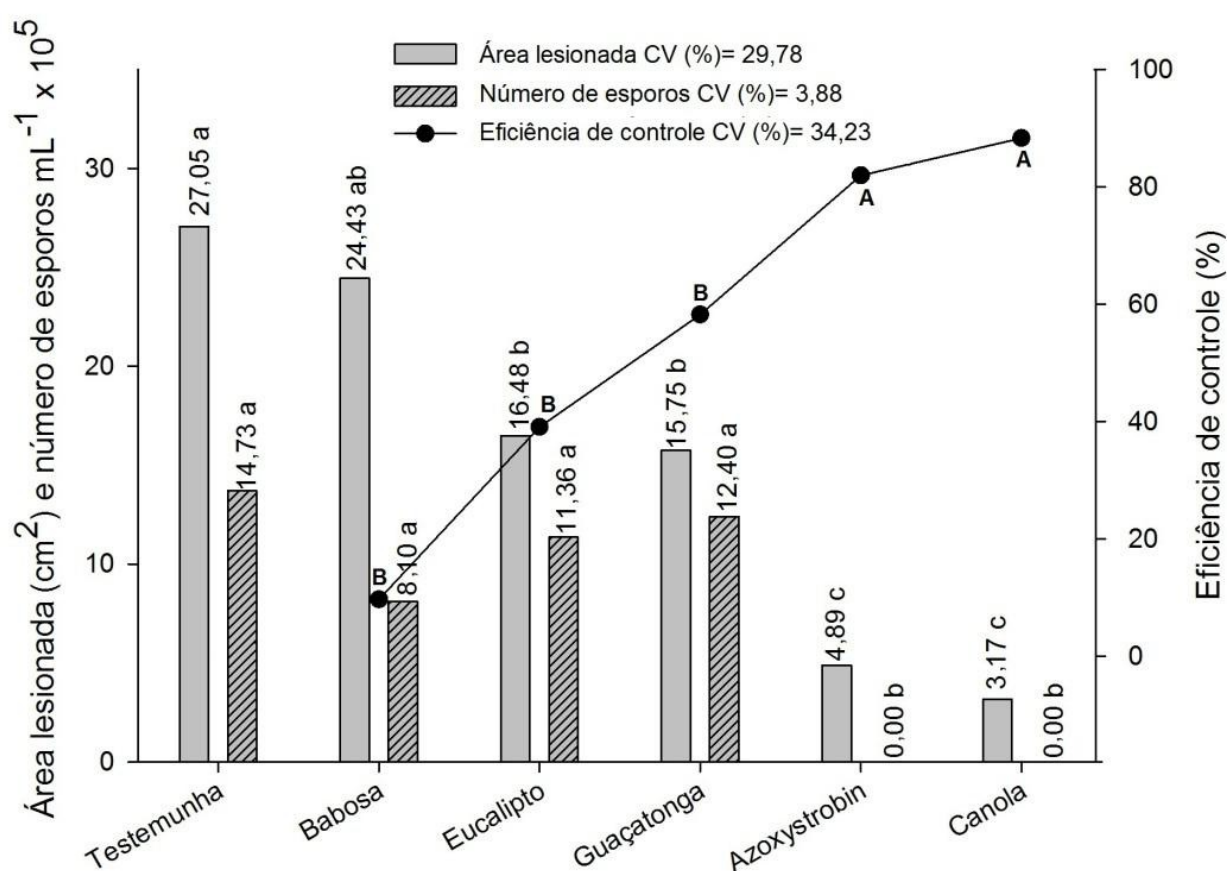


Figura 4 – Efeito do uso de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey em Pós-colheita de pêssegos inoculados por aspersão de 0,2 mL de suspensão de 10⁵ esporos mL⁻¹. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2011.

Pode-se observar na figura 4 e 5 que o extrato de canola inibiu totalmente a esporulação do patógeno e apresentou alta eficiência de controle não diferindo significativamente do controle químico (APÊNDICE C e D).

A utilização do pó da canola permite ao produtor utilizá-la em qualquer época do ano, lembrando que o extrato de canola não apresenta cheiro desagradável no fruto.

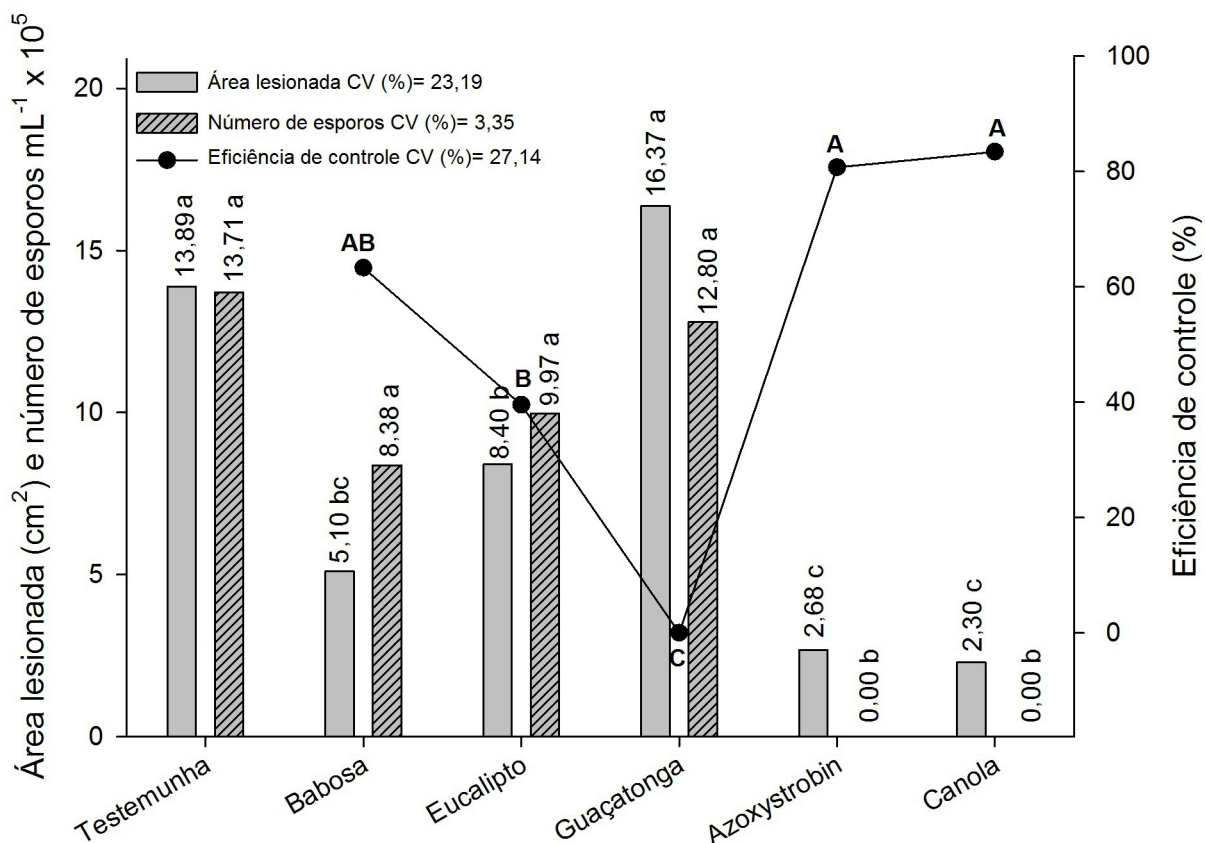


Figura 5 – Efeito do uso de extratos vegetais no controle de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey em pêssegos inoculados com 20 μ L de suspensão de 10^5 esporos mL⁻¹ diretamente na área lesionada. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2011.

Estudos utilizando o extrato de canola como controle alternativo ainda são escassos. Estudos anteriores mostraram que a formação de esporos a germinação o crescimento micelial *in vitro*, e as infecções nas plantas causadas por fitopatógenos podem ser inibidas por extratos de plantas (KYU KYU WIN et al. 2007; LEE et al. 2007; PLAZA et al. 2004). Resultados semelhantes foram observados no presente estudo, considerando o desenvolvimento *in vivo* do patógeno.

A inibição do crescimento de *M. fructicola* pelo uso do extrato de canola pode ser atribuída a grande quantidade de substâncias presentes neste extrato. Neste estudo os isotiocianatos, conhecidos como composto volátil do metabolismo secundário

das brassicas, podem ser responsáveis pelo efeito antimicrobiano encontrado, contudo, mais estudos são necessários com o intuito de esclarecer quais as substâncias contidas na canola (*Brassica napus*) interferiram no patossistema em questão.

A idéia de realizar um experimento que diferissem apenas na metodologia de inoculação se deu devido ao bom desempenho do extrato de canola apresentado na Figura 4, com isso se propôs avaliar a eficiência deste extrato através de um método com maior controle e mais exato (Figura 5).

4.3 EXPERIMENTO 4: DIFERENTES FORMAS DE PREPARO DE EXTRATOS DE BRASSICAS NO CONTROLE DE *MONILINIA FRUCTICOLA* EM PÊSSEGO

Para o tamanho da área lesionada, foi observado efeito significativo da interação entre formas de extração *versus* tipos de brassicas (Apêndice F). Os tratamentos com extratos de brassicas apresentaram redução significativa na área lesionada, quando comparado com a testemunha, independentemente da forma de extração (Tabela 1).

Tabela 1 – Efeito de formas de extração e espécies de brássicas, cujos extratos foram aplicados em pós-colheita, no tamanho da área lesionada (cm²) causada por *Monilinia fructicola* (Wint) Honey em pêssegos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2011

Formas de extração	Repolho	Nabiça	Canola	Média extração
Infusão	6,17*abA	7,90aA	0,61bB	4,89
Maceração	9,73 aA	1,92 bB	5,15aB	5,60
Alcoólico	3,20 bB	10,43 aA	5,35aB	6,32
Média das espécies	6,36	6,75	3,70	
Média do Fatorial				5,60
Testemunha				15,93**
CV (%)				40,17

*Médias seguidas por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p = 0,05$). ** Média da testemunha difere da média do fatorial pelo teste F ($p \leq 0,01$).

Pode-se observar que as melhores formas de extração encontrada para o repolho foi o alcoólico (3,20 cm²) e a infusão (6,17 cm²) que não diferiram significativamente entre si. Contrariamente a nabiça, a melhor forma de extração foi a maceração (1,92 cm²). Todavia para a canola se observou que a infusão foi a melhor forma de extração que apresentou o menor tamanho de área lesionada (0,61 cm²) (Tabela 1).

Isso significa que para cada espécie existe um tipo de extração apropriado, quando se objetiva reduzir o dano causado por *M. fructicola* em pós-colheita de pêssegos.

Para a variável número de esporos, a análise de variância não apresentou diferença significativa entre os fatores formas de extração *versus* tipos de brassicas (Apêndice D). Não houve diferença significativa entre as espécies testadas no número de esporos de *M. fructicola* produzidos nas lesões (Tabela 2), porém estes foram muito superiores na testemunha em que não se utilizou controle. O mesmo foi observado para as formas de extração, que não diferiram significativamente entre si, porém reduziram a produção de esporos quando comparados com a testemunha (Tabela 2).

Esta redução de esporos encontrada pelo uso de brassicas é de suma importância no controle deste patógeno, já que o mesmo se dissemina pelo vento.

Tabela 2 – Efeito de formas de extração e espécies de brássicas, cujos extratos foram aplicados em pós-colheita, na produção de esporos ($\text{mL}^{-1} \times 10^5$) de *Monilinia fructicola* (Wint) Honey em pêssegos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2011.

Formas de extração	Repolho	Nabiça	Canola	Média
Infusão	3,25 ^{ns}	12,50	3,00	6,25 ^{ns}
Maceração	1,38	4,88	2,25	2,83
Alcólico	1,50	0,75	0,87	1,04
Média	2,04 ^{ns}	6,04	2,04	
Média do Fatorial				3,37
Testemunha				61,87 ^{**}
CV(%)				7,46

^{**}Média da testemunha difere da média do fatorial pelo teste F ($p \leq 0,01$). ^{ns} Não significativo pelo teste F.

Willians et al. (1993) pondera que os compostos do metabolismo secundário, dentre eles os isotiocianatos, variam em quantidade dependendo do tipo de espécie estudada.

A fim de determinar a concentração mais eficaz de cada isotiocianatos Mari, et al. (2008) realizaram ensaios *in vivo* em nectarinas e pêssegos. Entre os cinco isotiocianatos testados, apenas Butenil e Alil reduziram a doença. No entanto, quando se utilizou biofumigação a partir de farinha desengordurada de *B. carinata* e *B. rapa*, a inibição da podridão parda produzida pelos isotiocianatos Butenil e Alil foi quase a mesma, com 89,5 e 86,9% para as nectarinas e 100 e 86,2% para os pêssegos. Além disso, os resultados dos ensaios *in vivo* indicam de 3 a 6 horas como o tempo de exposição ótimo da fruta nos vapores de isotiocianatos para se obter o melhor controle do agente patogênico.

Por esta razão, sabe-se que as moléculas de isotiocianatos presentes em cada uma das espécies testadas no presente trabalho podem diferir em quantidade e no tipo do composto que está agindo sobre o patógeno.

Segundo Mari et al. (2008) existe uma falta de informação principalmente no modo de ação dos isotiocianatos *in vivo*, enquanto que para a inibição da germinação de conídios e crescimento micelial de fungos patogênicos *in vitro*, a ação destes compostos tem sido melhor documentada.

Os extratos etanólicos de *Helenium amarum*, *Alternanthera dentata*, *Lippia alba* e *Solanum cordifolium* mostraram-se eficientes no controle de *Colletotrichum musae*, responsável pela podridão pós-colheita da banana, apresentando 35, 45, 61 e 43% de inibição do crescimento de *C. musae*, respectivamente.

Na tabela 3 pode-se observar que a canola na forma de extração infusão apresentou maior eficiência de controle quando comparada com as outras espécies. Para a forma de extração maceração a nabiça e a canola mostraram-se como as espécies mais eficientes no controle de *M. fructicola*, não diferindo significativamente entre si, enquanto para a forma de extração alcoólica o repolho e a canola apresentaram eficiência de controle significativa, não diferindo entre si.

Tabela 3 – Efeito de formas de extração e espécies de brássicas, cujos extratos foram aplicados em pós-colheita, na eficiência de controle (%) de *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey em pêssegos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, 2011.

Formas de extração	Repolho	Nabiça	Canola	Média extração
Infusão	61,26*abB	50,42bB	96,19aA	69,29
Maceração	38,94bB	87,92aA	67,67bA	64,84
Alcoólico	79,90aA	34,51bB	66,42bA	60,27
Média das espécies	60,03	57,61	76,76	
CV (%)				21,81

*Médias seguidas por letras distintas, maiúscula na linha e minúscula na coluna, diferem entre si pelo teste de Tukey ($p = 0,05$).

4.4 EXPERIMENTO 5: DIFERENTES MÉTODOS DE INJÚRIAS EM FRUTOS DE PÊSSEGO NO CONTROLE DE *MONILINIA FRUCTICOLA* (WINT) HONEY COM O USO DE EXTRATO DE CANOLA

O desenvolvimento dos sintomas de podridão parda nos frutos quando as inoculações foram realizadas sem ferimento foram praticamente nulas (Apêndice G e Figura 6), indicando que o patógeno apresenta dificuldade de penetrar nos frutos sem que haja porta de entrada (ferimentos).

Combater insetos como, *Anastrepha fraterculus* (mosca-das-frutas) e *Grapholita molesta* (mariposa oriental) evitam injúrias causadas pelos mesmos no pessegueiro, reduzindo a incidência da podridão-parda (MONTEIRO, 2004).

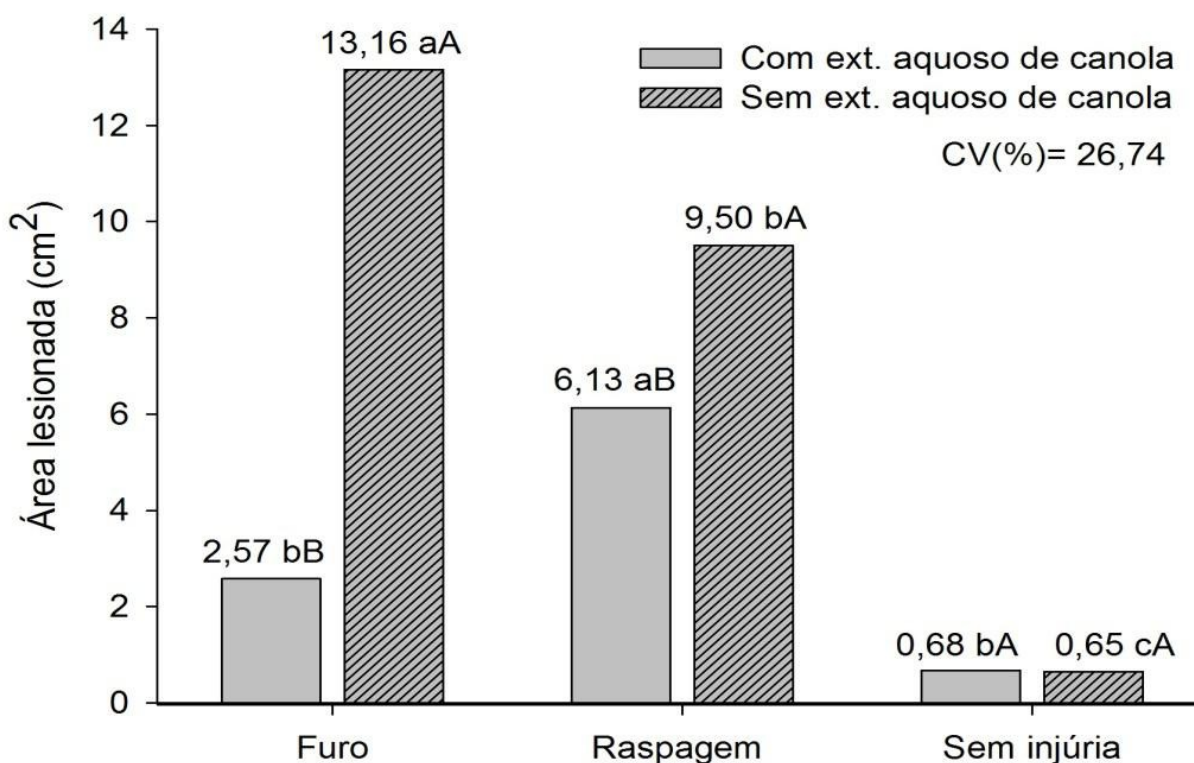


Figura 6 – Influência dos diferentes métodos de injúria utilizando extrato de canola como controle no tamanho de área lesionada (cm²) por *Monilinia fructicola* (Wint) Honey em frutos de Pêssego. *Médias seguidas por letras distintas, maiúscula com e sem canola dentro do mesmo tipo de injúria, e minúscula entre tipos de injúria dentro do mesmo extrato (com ou sem canola), diferem entre si pelo teste de Tukey ($p = 0,05$).

Resultados similares foram constatados por Senhor (2008) em frutos de meloeiro para o controle de *Myrothecium roridum* onde observaram que nos frutos sem ferimentos não houve a penetração do patógeno.

Siviero (2002) testou métodos de inoculação de *Phytophthora parasitica* em plântulas e plantas jovens de citros (*Citrus spp.*), visando sua utilização em estudos de resistência de porta-enxertos à gomose de *Phytophthora*, e observou que quando as plantas foram inoculadas sem ferimento não foi observado o desenvolvimento de lesões, confirmando que o patógeno necessita de ferimentos para penetrar na planta.

Injúrias provocadas nos frutos foram essenciais para iniciar o processo de infecção, pois facilitaram a penetração pelo patógeno. Além disso, os tecidos injuriados aumentam a atividade metabólica das células, provocando elevação da taxa de respiração, acelerando o processo de deterioração dos frutos (JACOMINO, 2004).

As lesões foram significativamente maiores nos frutos submetidos a ferimentos e não tratados com extrato de canola, quando comparadas com os tratamentos que receberam o extrato de canola (Figura 6).

O tamanho das lesões dos frutos com furo tratados com canola não diferiram do tamanho da lesão dos frutos sem injúria, o que evidencia o potencial da canola em controlar a expansão da doença. Já quando os frutos foram raspados e tratados com canola, a área lesionada foi significativamente maior quando comparada à área lesionada dos frutos furados e tratados com canola. Possivelmente a raspagem tenha possibilitado maior superfície de contato entre o fungo e o fruto o que facilitou a inoculação e reduziu a eficácia de controle do fungo pela canola. Porém em frutos não tratados com canola, o dano por furo apresentou as maiores lesões.

Os dois tipos de lesões realizadas no experimento (furo e raspagem) retratam o que pode ocorrer naturalmente, ou seja, o furo simula o ataque de pragas, como a grafolita e a raspagem pode simular um dano durante a colheita e/ou transporte.

Foi observado no decorrer do experimento que o tratamento que recebeu o furo como injúria começou a colonizar o fruto mais rápido, já a colonização do fruto para o tratamento com a raspagem procedeu-se de forma mais lenta, sendo necessário talvez um maior período de incubação, com isso seria interessante a realização de mais estudos sobre a eficiência deste método.

Contudo, o método de injúria ocasionado pelo furo apresenta maior homogeneidade e menos tempo de colonização do patógeno, mostrando ser a metodologia de injúria mais adequada para avaliar a eficiência do extrato de canola.

5 CONCLUSÕES

Nas condições em que os experimentos foram executados pode-se concluir que:

O extrato de canola possui eficiência no controle de podridão parda em pêssego.

As diferentes formas de extração são eficientes, sendo que para a canola a melhor forma de extração encontrada foi a infusão, para a nabiça foi a maceração e para o repolho foi a extração alcoólica.

O uso de extratos de brassicas reduz a produção e a germinação de conídios de *M. fructicola* em pós-colheita de pêssegos.

O método de injúria ocasionado por perfuração (furo) foi eficiente para avaliar a eficiência do extrato de canola.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos bons resultados encontrados com o uso de extratos vegetais de espécies da família das Brassicaceas, principalmente a canola, fica evidente a necessidade de mais estudos sobre o potencial destas espécies, tanto em trabalhos na pós-colheita, quanto na pré-colheita para o controle da podridão-parda em pêssegos. A realização de maiores estudos em relação as formas de extração devem ser pesquisadas.

Outros trabalhos avaliando os diferentes extratos quanto a composição cromatográfica devem ser realizados.

O comportamento dos parâmetros físico-químicos dos frutos devem ser avaliados, objetivando observar se a aplicação dos extratos alteram tais parâmetros.

Trabalhos avaliando a ação dos produtos na indução de resistência devem ser considerados.

REFERÊNCIAS

- ABREU, F. M., LOURENÇO, S. A., BASSETTO, E., GONÇALVES, F. P., MARTINS, M. C., AMORIM, L. Effect of sanitizing products on the postharvest control of brown rot (*Monilinia fructicola*) and soft rot (*Rhizopus stolonifer*) in peaches. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.34, n.1, p.86-88, 2008
- AGRIANUAL; Anuário estatístico da agricultura brasileira. São Paulo: Instituto FNP, 2012.
- ALMEIDA, T.F., CAMARGO, M., PANIZZI, R.C. Efeito de extratos de plantas medicinais no controle de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da flor preta do morangueiro. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.35, n.3, p.196-201, 2009
- ALVAREZ, A. M.; NISHIJIMA, W. T. Postharvest diseases of papaya. **Plant Disease**, Londres, v. 71, n. 8, p. 681-686, 1987.
- ARAÚJO, D.V.; MARIANO, R. DE L.R.; MICHEREFF, S.J. Métodos de inoculação de *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* em melão. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.31, p. 69-73, 2005.
- BALZAN, L.; SANTOS, I. dos; CITADIN, I.; GUGINSKI, C. A. Extratos vegetais e fosfito de potássio no controle da podridão parda do pêssego. In: **Anais do 44º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**. Bento Gonçalves, RS. 2011.
- BAPTISTA, M.J., R.B. SOUZA, W. PEREIRA, A.O.CARRIJO, M.C. VIDAL, & J.M. CHARCHAR. Solarização do solo e biofumigação no cultivo protegido de tomate. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 47-52, 2006.
- BASTOS, C.N. & ALBUQUERQUE, P.S.B. Efeito do óleo de *Piper aduncum* no controle em pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, p. 555-557, 2004.
- BENATO, E. A. Controle de doenças pós-colheita em frutas tropicais. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v. 25, n. 1, p. 90-93, 1999.
- BERNARDI, R. Isolation and Biochemical Characterization of a Basic Myrosinase from Ripe *Crambe abyssinica* Seeds, Highly Specific for epi-Progoitrin, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2737-2744, 2003.
- BLEICHER, J. **Doenças de rosáceas de caroço**. In: Kimati, H, Amorin, L, Bergamim, F, Camargo L.E.A, Rezende, J.A.M. ed. Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas. 3. Ed. São Paulo: Ceres, p. 621-627, 1997.
- BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. FIORI-TUTIDA, A. C. G. Contribuição ao estudo das atividades antifúngica e elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por eucalipto (*Eucalyptus citriodora*). **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.4, p.383-387, 2007.

BONALDO, S. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; TESSMANN, D.J.; SCAPIM, C. A. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.29, n.2, p.128-134, 2004.

BONATERRA, A., MARI, M., CASALINI, L., MONTESINOS, E. Biological control of *Monilinia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in postharvest of stone fruit by *Pantoea agglomerans* EPS125 and putative mechanisms of antagonism. **Int. Journal Food Microbiology**, v. 84, p. 93–104, 2003.

BOREK, V.; MORRA, M.J.; BROWN, P.D.; McCAFFREY, J.P. Transformation of the glucosinolate-derived allelochemicals allyl isothiocyanate and allyl nitrile in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 1935–1940, 1995.

BOTTON, M. Sistema de produção, ISSN 1678-8761, versão eletrônica. Embrapa Uva e vinho, 2003.

CARVALHO, P.C.T **Doenças das rosáceas**. In. GALLI, F. et al. Ed. **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 2. Ed. São Paulo: Ceres, p. 443-458, 1980.

CELOTO, M.I.B Atividade antifúngica de extratos de plantas a *Colletotrichum Gloeosporioides*, **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 30, n. 1, p. 1-5, 2008

CRUZ, C.D. **Programa Genes: Estatística experimental e matrizes**. Editora UFV. Viçosa (MG). 285p. 2006

DANNER, M, A. Indução de resistência à podridão-parda em pêssegos pelo uso de eliciadores em pós-colheita, **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.43, n.7, p.793-799, 2008.

FACHINELLO, J.C.; Avanços com a produção integrada de pêssego. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, MG , v. 22, p.61-66, 2001.

FAHEY, J. W.; ZALCMANN, A. T.; TALALAY, P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. **Phytochemistry**, v. 56, p. 5-51, 2001.

FAN, C.M.; XIONG, P.Q; JI, G.H.; HE, Y. Potential Biofumigation Effects of *Brassica oleracea* var. *caulorapa* on Growth of Fungi. **Journal Phytopathology**, Berlim, v. 156, p. 321-325, 2005.

FAYZALLA, E.A.; EL-BAROUGY, E.; EL-RAYES, M.M. Control of Soilborne pathogenic fungi of soybean by biofumigation with mustard seed meal. **Journal of Applied Sciences**, v. 12, p. 2272-2279, 2009.

FENG, X.; WANG, B.; LI, W.; CAO, L. S. J.; JIANG, W. Preharvest Application of Phellodendron Bark Extracts Controls Brown Rot and Maintains Quality of Peento-shaped Peach. **Hortscience**, Alexandria, v.43, p. 1857–1863, 2008

FINIGUERRA, M.G., IORI, R., PALMIERI, S. Soluble and total myrosinase activity in defatted Crambe abyssinica meal. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 840–845, 2001.

FORMIGHIERI, A.P Avaliação do potencial da planta Adiantum capillus-veneris (L.) no controle de fitopatógenos. **Arquivo do Instituto Biológico**. São Paulo, v.77, n.3, p.487-496, 2010.

FORTES, J.F, MARTINS, O.M **Sintomatologia e controle das principais doenças**. In: MEDEIROS, C.A.B, RASEIRA, M.C. Ed. A cultura do pessegueiro. Pelotas: Embrapa – CPACT, p. 243-264.

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 Agronomy**, Maringá, v.25, p. 503-507, 2003.

GONZÁLES-MORO, J.J.C La trazabilidad y cultivos controlados e integrados, jornada autonómica de la Comunidad Canaria Sta. Cruz de Tenerife, 2002.

IBRAF. Instituto Brasileiro de frutas. In: www.ibraf.org.br, 2012.

JACOMINO, A.P.; ARRUDA, M.C.; MOREIRA, R.C., KLUGE, R.A. Processamento mínimo de frutas no Brasil. In: GONZÁLES AGUILAR, G. (Ed.). **Estado actual del mercado de frutas y vegetales cortados en Iberoamérica**. San Jose: Universidad de Costa Rica, p.79-86, 2004.

KARABULUT, O.A., COHEN, L., WIESS, B., DAUS, A., LURIE, S., DROBY, S., Control of brown rot and blue mold of peach and nectarine by short hotwater brushing and yeast antagonists. **Postharvest Biology Technology**, Londres, v. 24, p. 103–111, 2002.

KIRKEGAARD, J.A.; WONG, P. J.W.; DESMARCHELIER, J.M. In vitro suppression of fungal root pathogens of cereals by Brassicas tissues. **Plant Pathology**, v. 45, p. 593-603, 1996

KRUGNER, T.L & BACCHI, L.M.A **Fungos**. In: BERGAMIN, F, KIMATI, H, AMORIN, L. ed. **Manual de fitopatologia: princípios e conceitos**. 3 ed. São Paulo: Ceres, p. 46-96

KIMATI, H, et al. **Manual de fitopatologia**, vol. 2. Doenças das plantas cultivadas, 1997.

KYU KYU WIN, N., JITAREERAT,P., KANLAYANARAT, S., SANGCHOTE, S.Effect of cinnamon extract, chitosan coating, hot water treatment and their combinations on crown rot disease and quality of banana fruit. **Postharvest Biology Technology**, Londres, v. 45, p. 333–340, 2007.

LAEGDSMAND, M.; GIMSING, A.L.; STROBEL, B. W.; SORENSEN, J.C.; JACOBSEN, O. H.; CHRISTIAN, H.; HANSEN, B. Leaching of isothiocyanates through intact soil following simulated biofumigation. **Plant Soil**, Netherlands, v. 291, p. 81–92, 2007.

LEE, S.H., K.S. CHANG, M.S. SU, Y.S. HUANG, AND H.D. JANG. Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. **Food control**. v. 18, p.1547–1554, 2007.

LIMA, N. G. P. B.; CABRAL, A. G. S.; FURTADO, F. F.; LIMA, I. P. B.; MACEDO, R. O. *Urtica dioica*: uma revisão dos estudos das suas propriedades farmacológicas, **Revista Brasileira de Farmacologia**, v.89, p.199-206, 2008.

LODHA, S.; SHARMA, S.K.; AGGARWAL, R.K. Solarization and natural heating of irrigated soil amended with cruciferous residues for improved control of *Macrophomina phaseoli*. **Plant Pathology**. v. 46, p. 186-190, 1997.

LU, J.Y., LUKOMBO, S.M., STEVENS, C., KHAN, V.A., WILSON, C.L., PUSEY, P.L. & CHAULTZ, E. Low-dose UV and gamma-radiation on storage rot and physicochemical changes in peaches. **Journal of Food Quality**. v.16, p.301-309. 1993.

BAPTISTA MJ; SOUZA RB; PEREIRA W; CARRIJO AO; VIDAL MC; CHARCHAR JM. 2006. Solarização do solo e biofumigação no cultivo protegido de tomate. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 47-52, 2006

MANICI, M.L., LAZZERI, L., LEONI, O., BARUZZI, G., PALMIERI, S., Glucosinolate-myrosinase system of Brassicaceae for controlling soilborne pathogens. **Journal Plant Pathology**, Londres, v.80, p. 260, 1998.

MARI, M., LEONI, O., IORI, R., CEMBALI, T., Antifungal vapour-phase of allyl-isothiocyanate against *Penicillium expansum* on pears. **Plant Pathology**, Sociedade Britânica de Fitopatologia, v.51, p.231–236, 2002.

MARI.M, LEONI.O, BERNARDI, R, NERI, F, PALMIERI, S, Control of brown rot on stonefruit by synthetic and glucosinolate-derived isothiocyanates. **Postharvest biology and technology**, Londres, v. 47, p.61-67, 2008.

MARQUES, M.W.; COILA, V. H. C.; LOPES, R.A.M.; NAUE, C. R.; LIMA, N. B.; ROSSETTO, E. A. Avaliação da atividade antifúngica do extrato de *Eucalyptus* spp. Sobre o crescimento de fitopatógenos. In: **XVII Congresso de iniciação científica e X encontro de pós-graduação**. Pelotas. 2008.

MAY DE MIO, L.L, GARRIDO, L., UENO, B. **Doenças de fruteiras de caroço**. In: **Fruteiras de caroço**, uma visão ecológica, 2004.

MAYTON, H.S.; OLIVIER, C.; VAUGHN, S.F.; LORIA, R. Correlation of fungicidal activity of brassica species with allyl isothiocyanate production in macerated leaf tissue. **Phytopathology**, Londres, v.86, p. 267-271, 1996.

MOCCELLIN, R. **Espécies de brássicas no controle de fitopatógenos habitantes do solo**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco-PR, 2011.

MONTEIRO, L.B. & HICKEL, E. **Pragas de importância econômica em fruteiras de caroço**. In. **Fruteiras de caroço**, uma visão ecológica, 2004.

MORRA, M. .J.; BOREK, V. Glucosinolate preservation in stored Brassicaceae seed meals. **Journal of Stored Products Research**, v. 46, p. 98-102, 2010.

MUEHLCHEN, A.M, RAND, R.E, PARKE, J.L Evaluation of crucifer green manures for controlling *Aphanomyces* root rot of peas, **Plant disease**. v. 74, p. 651-654, 1990.

NERI, F., MARI, M., BRIGATI, S. Control of *Penicillium expansum* by plant volatile compounds. **Plant Pathology**, Sociedade Britânica de Fitopatologia, v. 55, p. 100–105, 2005.

NEVES, W.; FREITAS L. G.; COUTINHO, M. M.; PARREIRA, D. F.; FERRAZ, S.; COSTA, M. D. Biofumigação do Solo com Espécies de Brássicas para o Controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 31, p. 195-201, 2007.

OERLEMANS, K; BARRETT, D. M.; SUADES, C. B.; VERKERK, R.; DEKKER, M. Thermal degradation of glucosinolates in red cabbage. **Food Chemistry**, v. 95, p. 19–29, 2006.

PAPAVIZAS, G.C & LEWIS, J.A Effect of amendments and fungicides on *Aphanomyces* root rot of peas. **Phytopathology**, Londres, v. 61, p. 215-220, 1971.

PAPAVIZAS, G.C Supression of *Aphanomyces* root rot of peas by cruciferous soil amendmendts. **Phytopathology**, Londres, v. 56, p. 1071-1075, 1966.

PASINI, C.; D'AQUILA.; CURIR, P.; GULIINO, M. L. Effectiveness of antifungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glasshouses, **Crop Protection**. v. 16, p. 251-256, 1997.

SENHOR, R.F. Influência do método de inoculação, intensidade do fermento e idade do fruto na severidade da podridão-de-cratera em melão. **Summa Phytopathologica**, botucatu, v.34, p.232-237, 2008.

SILVA J.A; PEGADO C.M.A.; RIBEIRO V.V.; BRITO N.M.; NASCIMENTO L.C.; Efeito de extratos vegetais no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp tracheiphilum em sementes de caupi, **Ciência e agrotecnologia**., Lavras, v. 33, p. 611-616, 2009

SIVIERO, A., FURTADO, E.L., BOAVA, L.P., BARBASSO, D.V. & MACHADO, M.A. Avaliação de métodos de inoculação de *Phytophthora parasitica* em plântulas e plantas jovens de citros. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, p. 574-580, 2002.

SMOLINSKA, U. Survival of *Sclerotium cepivorum* sclerotia and *Fusarium oxysporum* chlamydospores in soil amended with cruciferous residues. **Journal Phytopathology**, Berlim. v. 148, p. 343-349, 2000.

SMOLINSKA, U.; HORBOWICZ, M. Fungicidal activity of volatiles from selected cruciferous plants against resting propagules of soil-borne fungal pathogens. **Journal Phytopathology**, Berlim. v. 147, p. 119-124, 1999.

SOUZA, A.E.F.; ARAÚJO, E.; NASCIMENTO, L.C Atividade antifúngica de extratos de alho e capim-santo sobre o desenvolvimento de *Fusarium proliferatum* isolado de grãos de milho. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 32, p.465-471, 2007.

STANGARLIN, J.R.; SCHAW-ESTRADA, K.R.F.; CRUZ, M.E.S.; NOZAKI, M.H. Plantas medicinais, **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, 2005.

SULTANA, T.; SAVAGE, G. P; MCNEIL, D. L.; PORTER, N. G; MARTIN J., DEO, B. Effects of fertilisation on the allyl isothiocyanate profile of above-ground tissues of New Zealand-grown wasabi. **Jornal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 1477–1482, 2002.

TSAO, R., ZHOU, T. Antifungal activity of monoterpenoids against postharvest pathogens *Botrytis cinerea* and *Monilinia fructicola*. **Journal of Essential Oils Research** v. 12, p. 113–121, 2000.

VENTUROSIO, L.R.; BACCHI, L.M.A.; GAVASSONI, W.L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B.C.A.; BERGAMIN, A.C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. **Summa Phytopathology**. Botucatu, v. 37, p. 18-23, 2011.

WILLIAMS, L., 111.; MORRA, M. J.; BROWN, P. D.; MCCAFFREY, J. P. Toxicity of allyl isothiocyanate-amended soil to *Limonius californicus* (Mann.) (Coleoptera: Elateridae) wireworms. **Journal of Chemical Ecology**. v. 19, p. 1033-1046, 1993.

WILSON, C.L.; EL GHAOUTH, A.; CHALUTZ, E.; DROBY, S.; STEVENS, C.; LU, J.Y.; KHAN, V.; ARUAL, J. Potential of induced resistance to control postharvest diseases of fruits and vegetables. **Plant diseases**, St. Paul, v. 78, p. 837-844, 1994

XIAOYUAN, F. Preharvest Application of Phellodendron Bark Extracts Controls Brown Rot and Maintains Quality of Peento-shaped Peach. **Hortscience**, Alexandria. v. 43, p. 1857–1863, 2008.

ÍNDICE DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Resumo da análise da variância (ANOVA) para porcentagem de esporos germinados (Figura 1).....	54
APÊNDICE B – Resumo da análise da variância (ANOVA) para o crescimento micelial (Figura 2 e 3).....	55
APÊNDICE C – Resumo da análise da variância (ANOVA) para área lesionada e número de esporos do experimento 2 (Método de inoculação borrifado) (Figura 4).....	56
APÊNDICE D – Resumo da análise da variância (ANOVA) para área lesionada e número de esporos do experimento 2 (Método de inoculação pipeta) (Figura 5).....	57
APÊNDICE E – Resumo da análise da variância (ANOVA) para eficiência de controle do experimento 2. (Figura 4 e 5).....	58
APÊNDICE F – Resumo da análise da variância (ANOVA) para Área Lesionada (Tabela 1); número de esporos (Tabela 2) e eficiência de controle (Tabela 3).....	59
APÊNDICE G – Resumo da análise da variância (ANOVA) para área lesionada do experimento 4 (Figura 6).....	60

APÊNDICES

APÊNDICE A – Resumo da análise da variância (ANOVA) para porcentagem de esporos germinados (Figura 1).

Fonte de variação	GL	Quadrado médio
		Esporos germinados ^Y
Tratamentos	4	0,204**
Resíduo	20	0,019
Média		1,07
CV (%)		13,13

^Y Dados transformados pelo $\arcseno(\sqrt{x/100})$ **Significativo pelo teste F ($p \leq 0,01$).

APÊNDICE B. Resumo da análise da variância (ANOVA) para crescimento micelial (Figura 2 e 3)

Fonte de variação	GL	Quadrado médio do crescimento micelial	
		1° Avaliação	2° Avaliação
Tratamentos	4	25,22**	43,14**
Resíduo	30	0,90	0,84
Média geral		3,90	4,59
CV(%)		24,35	20,01

APÊNDICE C – Resumo da análise da variância (ANOVA) para área lesionada e número de esporos do experimento 2 (Método de inoculação borrifado) (Figura 4)

Fonte de variação	GL	Quadrado médio	
		Área lesionada	Número de esporos ^Y
Tratamentos	5	382,71**	0,13**
Resíduo	18	20,76	0,002
Média geral		15,29	1,34
CV(%)		29,78	3.88

^Y Dados transformados pelo $\arcseno(\sqrt{x/100})$ **Significativo pelo teste F ($p \leq 0,01$).

APÊNDICE D – Resumo da análise da variância (ANOVA) para área lesionada e número de esporos do experimento 2 (Método de inoculação pipeta) (Figura 5).

Fonte de variação	GL	Quadrado médio	
		Área lesionada	Número de esporos ^Y
Tratamentos	5	139,23**	0,125**
Resíduo	18	3,55	0,002
Média geral		8,12	1,34
CV(%)		23,19	3,35

^Y Dados transformados pelo $\arcseno(\sqrt{x/100})$ **Significativo pelo teste F ($p \leq 0,01$).

APÊNDICE E – Resumo da análise da variância (ANOVA) para eficiência de controle do experimento 2. (Figura 4 e 5).

Fonte de variação	GL	Quadrado médio da eficiência de controle	
		Experimento borrifado	Experimento pipeta
Tratamentos	4	4269,00**	6951,68**
Resíduo	15	318,72	182,76
Média geral		52,15	49,80
CV (%)		34,23	27,14

**Significativo pelo teste F ($p \leq 0,01$).

APÊNDICE F – Resumo da análise da variância (ANOVA) para Área Lesionada (Tabela 1); número de esporos (Tabela 2) e eficiência de controle (Tabela 3).

Fonte de variação	GL	Quadrado médio		
		Área lesionada	Número de esporos ^Y	Eficiência de controle
Brassica(A)	2	1,678 ^{ns}	0,019 ^{ns}	243,77 ^{ns}
Extração (B)	2	49,00 ^{**}	0,0001 ^{ns}	1304,68 ^{**}
A x B	4	84,385 ^{**}	0,0095 ^{ns}	2790,29 ^{**}
Test vs (A x B)	1	383,49 ^{**}	2,285 ^{**}	-
Residuo	30	5,07	0,011	199,77
Média Geral		6,63	1,37	64,80
Média do fatorial		5,60	1,45	-
Média Testemunha		15,93	0,65	-
CV(%)	-	40,17	7,46	21,81

^Y Dados transformados pelo $\arcseno(\sqrt{x/100})$ ^{**}Significativo pelo teste F ($p \leq 0,01$).

APÊNDICE G – Resumo da análise da variância (ANOVA) para área lesionada do experimento 4 (Figura 6)

Fonte de variação	GL	Quadrado médio
		Área lesionada
Injúrias (A)	2	137,52**
Com/sem canola (D)	1	129,32**
Interação (AxD)	2	58,74**
Resíduo	18	2,12
Média geral		5,45
CV (%)		26,74

**Significativo pelo teste F ($p \leq 0,01$).