

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

CLAUCIA CUZZI

EXTRATOS DE CANOLA NO CONTROLE DE *Botrytis cinerea* *In*
VITRO E DO MOFO CINZENTO EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2013

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

CLAUCIA CUZZI

**EXTRATOS DE CANOLA NO CONTROLE DE *Botrytis cinerea* In
VITRO E DO MOFO CINZENTO EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS**

DISSERTAÇÃO

PATO BRANCO

2013

CLAUCIA CUZZI

**EXTRATOS DE CANOLA NO CONTROLE DE *Botrytis cinerea* In
VITRO E DO MOFO CINZENTO EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS**

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: Dr. Idalmir dos Santos

Co-orientador: Dr. Sérgio Miguel Mazaro

PATO BRANCO

2013

Catálogo na Fonte por Elda Lopes Lira CRB9/1295

C993 e Cuzzi, Cláucia

Extratos de canola no controle de *Botrytis cinerea in vitro* e do mofo cinzento em pós-colheita de morangos/ Cláucia Cuzzi – 2013.

X, 64 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Idalmir dos Santos

Co-orientador: Sérgio Miguel Mazaro

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco/PR, 2013.

Bibliografia: f. 49 – 59

1. *Brassica napus* L. 2. extratos vegetais 3. Indução de resistência. I. Santos, Idalmir, orient. II., Mazaro, Sérgio Miguel, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD: (22.ed.)630



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 nº 082

Extratos de canola no controle de *Botrytis cinerea in vitro* e do mofo cinzento em pós-colheita de morangos

por

CLAUCIA CUZZI

Dissertação apresentada às nove horas do dia vinte e oito de maio de dois mil e treze como requisito parcial para obtenção do título de MESTRE EM AGRONOMIA, Linha de Pesquisa – Sistemas de Produção Vegetal, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Gilmar Franzener
UFFS

Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro
UTFPR/DV
Coorientador

Prof^ª. Dr^ª. Rosangela Dallemole
Giaretta
UTFPR/PB

Prof. Dr. Idalmir dos Santos
UTFPR/PB
Orientador

Visto da Coordenação:

Prof. Dr. Idalmir dos Santos
Coordenador do PPGAG

*O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – PPGAG da UTFPR – Câmpus Pato Branco.

AGRADECIMENTOS

A Deus por permitir a conclusão do Mestrado, mesmo tendo passado por momentos de grande sofrimento, e por ter dado forças para mim e toda minha família, nas horas em que minha saúde não estava ajudando seguir em frente.

Aos meus pais, pelo amor, carinho e atenção recebidos sempre, apoiando e me fazendo acreditar que seria possível vencer tudo e concluir o Mestrado.

Ao meu orientador Idalmir dos Santos pela orientação durante o Mestrado.

Ao professor Sérgio Miguel Mazaro, pela co-orientação, incentivo e colaboração na elaboração e avaliação dos experimentos.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná e todos os professores do programa que ministraram as disciplinas do Mestrado.

Aos meus amigos Álvaro Rodrigo Freddo, Andreia Vilani, Etiane Tanise Sônego, Letícia Bertusso Toffoli e Zenilson Balem, pelo companheirismo nas horas difíceis e alegres, que juntos passamos.

À Etiane, Andréia e Álvaro, por estarem sempre me auxiliando nas pesquisas, e me confortarem nos momentos de dificuldades que passei.

“Pouco importa o julgamento dos outros. Os seres humanos são tão contraditórios que é impossível atender às suas demandas e satisfazê-los. Tenha em mente simplesmente ser autêntico e verdadeiro...”

Dalai Lama

RESUMO

CUZZI, Cláudia. Extratos de canola no controle de *Botrytis cinerea in vitro* e do mofo cinzento em pós-colheita de morangos. 64f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção Vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

O mofo cinzento é causado pelo fungo *Botrytis cinerea* (Pers.: Fr.), causador de grandes perdas econômicas em várias culturas. Este patógeno é de difícil controle, devido à ampla gama de hospedeiros, sua atividade saprófita e por formar estruturas de resistência (escleródios). Uma das formas de controle deste patógeno é a utilização de produtos químicos, no entanto, principalmente na pós-colheita de frutos, a tolerância por resíduos químicos nos alimentos, é cada vez menos desejável do ponto de vista ecológico e de saúde pública. Os tratamentos alternativos, como a utilização de extratos de plantas, vêm sendo pesquisados na fitopatologia, para reduzir o uso dos fungicidas sintéticos. A canola (*Brassica napus*) é uma planta que possui compostos biocidas, com potencial de controle de pragas e doenças. Este trabalho teve como objetivos avaliar o efeito de diferentes extratos da canola (alcoólico, macerado, aquoso sem tempo de reserva e infusão) no controle de *Botrytis cinerea in vitro* e em pós-colheita de morangos. Foram realizados dois experimentos *in vitro*, sendo um para avaliar o crescimento micelial e outro a germinação de conídios. O delineamento experimental para os dois experimentos foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 5, sendo o fator modos de extração de extratos e concentrações (0, 3, 6, 9 e 12%), em 4 repetições. No ensaio de crescimento micelial, a unidade experimental foi uma placa de Petri, e um tubo de ensaio no teste de germinação de conídios. Em pós-colheita foram testados os quatro tipos de extratos na concentração de 16%. O delineamento foi inteiramente casualizado, com 4 repetições por tratamento, sendo a parcela composta por 10 frutos/bandeja. Os parâmetros físico-químicos avaliados foram podridões, perda de massa, firmeza de polpa e acidez titulável. As análises bioquímicas avaliadas foram proteínas totais, antocianinas e flavonóides, e a atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) e peroxidases. Os resultados obtidos permitiram concluir que houve redução do crescimento micelial e da germinação de conídios, em função das concentrações, mas não ocorreram diferenças entre os extratos. A maior eficiência dos extratos ocorreu na concentração de 8,31%, na avaliação com 96 horas. Para a germinação o comportamento foi linear decrescente, ou seja, o aumento das concentrações influenciou na menor germinação dos conídios. Os extratos: alcoólico, maceração e infusão reduziram as podridões causadas por *B. cinerea* em pós-colheita de morangos. Os extratos atuaram na alteração do teor de acidez dos frutos, e no comportamento das peroxidases, mas não apresentaram efeito sobre sólidos solúveis totais (SST), firmeza de polpa, perda de massa, antocianinas, flavonóides, e atividade da FAL. Os resultados obtidos neste trabalho, comprovam o potencial da canola no controle do mofo cinzento em pós-colheita de morangos, bem como do fungo *Botrytis cinerea*.

Palavras-chave: *Brassica napus* L., extratos vegetais, indução de resistência.

ABSTRACT

CUZZI, Claucia. Extracts of canola in the control of *Botrytis cinerea in vitro* and of gray mold in post-harvest of strawberries. 64F. Thesis (M.Sc. in Agronomy) – Postgraduate Program in Agronomy (Area of Concentration: Plant Production), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

The gray mold is caused by the fungus *Botrytis cinerea* (Pers.: Fr.), causer of great economic losses in various cultures. This pathogen is difficult to control, due to the wide range of hosts, its saprophytic activity and by forming structures of resistance (esclerodios). One of the ways to control this pathogen is the use of chemical products, however, mainly in post-harvest fruit, tolerance by chemical residues in foods is increasingly less desirable from an ecological and public health point of view. The alternative treatments, such as the use of plant extracts, are being probed in phytopathology, to reduce the use of synthetic fungicides. The canola (*Brassica napus*) is a plant that has biocidal compounds, with potential to control pests and diseases. This study aimed to evaluate the effect of different extracts of canola (alcoholic, macerate, aqueous without reserve time and infusion) in the control of *Botrytis cinerea in vitro* and in post-harvest of strawberries. Two experiments were conducted in vitro, being one to evaluate the mycelial growth and another the germination of conidia. The experimental design for the two experiments was completely randomized, in a 4 x 5 factorial scheme, and the modes of extraction of extracts and concentrations (0, 3, 6, 9 and 12 %), in 4 repetitions. In the trial mycelial growth, the experimental unit was a Petri dish, and a test tube in germination test of conidia. In post-harvest were tested four types of extracts at a concentration of 16 %. The experimental design was completely randomized, with 4 repetitions per treatment, being the plot composed by 10 fruits/tray. The physico-chemical parameters evaluated were rotting, weight loss, firmness and titratable acidity. The biochemical analyzes were evaluated total proteins, anthocyanins and flavonoids, and the activity of the enzyme phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and peroxidases. The results obtained allowed us to conclude that there was a reduction of mycelial growth and germination of conidia, as a function of the concentrations, but there were no differences between the extracts. The greater efficiency of extracts occurred at a concentration of 8.31 %, in evaluation with 96 hours. For germination, the behavior was decreasing linear, in other words, the increase of concentrations influenced the lower germination of conidia. The extracts: alcoholic, maceration and infusion reduced the rot caused by *B. cinerea* in post-harvest of strawberries. The extracts operate in fruits acidity modification, and in the behavior of peroxidases, but they had no effect on total soluble solids (TSS), pulp firmness, weight loss, anthocyanins, flavonoids, and activity of the PAL. The results obtained in this work, have demonstrate the potential of canola in the control of gray mold on post-harvest of strawberries, as well as the fungus *Botrytis cinerea*.

Keywords: *Brassica napus* L. , plant extracts, induction of resistance.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Efeito de concentrações de extratos de canola sobre o crescimento micelial de *Botrytis cinerea*, crescido por 96 h em meio de cultivo BDA, a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h. UTFPR, Pato Branco – PR, 2012.....35
- Figura 2 - Efeito de concentrações de extratos de canola sobre a percentagem de germinação de conídios de *Botrytis cinerea*, germinados em tubo de ensaio por 9 h, a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h . UTFPR, Pato Branco – PR, 2012.....36
- Figura 3 – Eficiência dos extratos de canola no controle da germinação de *Botrytis cinerea*. UTFPR, Pato Branco – PR, 2012.....36
- Figura 4 - Atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) com 12, 24, 36 e 48 h após a aplicação dos extratos de canola, obtidos por diferentes modos de extração, na concentração de 16%, em pós-colheita de morangos. UTFPR, Dois Vizinhos– PR, 2012.....46
- Figura 5 - Atividade de peroxidases com 12, 24, 36 e 48 h após a aplicação dos extratos de canola, obtidos por diferentes modos de extração, avaliadas até 48 h após a implantação do experimento. UTFPR, Dois Vizinhos– PR, 2012.....46

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Incidência de podridão causada por *Botrytis cinerea* em morangos “Camarosa” e dos parâmetros físico-químicos, após serem tratados com extratos de canola obtidos por diferentes formas de extração. UTFPR, Pato Branco – PR, 2011 e 2012.....39
- Tabela 2- Parâmetros bioquímicos de proteínas (mg./g.tecido), peroxidases (unidade enzimática.minuto⁻¹), FAL (UAbs min mg proteína⁻¹), antocianinas mg.100 g⁻¹) e flavonoides (mg.100 g⁻¹) de morangos “Camarosa”, tratados com diferentes extratos de canola. UTFPR, Pato Branco – PR, 2011.....43
- Tabela 3 - Parâmetros bioquímicos de proteínas (mg./g.tecido), peroxidases (unidade enzimática.minuto⁻¹), FAL (UAbs min mg proteína⁻¹), antocianinas (mg.100 g⁻¹) e flavonoides (mg.100 g⁻¹), de morangos “Camarosa”, tratados com diferentes extratos de canola. UTFPR, Pato Branco – PR, 2012.....44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	11
2 OBJETIVOS.....	13
2.1 GERAL.....	13
2.2 ESPECÍFICOS.....	13
3 EMBASAMENTO TEÓRICO.....	14
3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DO MORANGUEIRO.....	14
3.2 DOENÇAS EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS.....	15
3.3 USO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE PODRIDÕES DE FRUTOS EM PÓS-COLHEITA.....	17
3.4 UTILIZAÇÃO DE BRÁSSICAS NO CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS.....	20
3.5 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS À PATÓGENOS.....	22
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	27
4.1 OBTENÇÃO DAS PLANTAS DE CANOLA.....	27
4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE CANOLA.....	27
4.2.2 Extratos aquosos	28
4.3 OBTENÇÃO E ISOLAMENTO DO PATÓGENO.....	28
4.4 MONTAGEM DOS EXPERIMENTOS IN VITRO.....	29
4.4.1 Ação dos extratos (aquosos e alcoólico) de canola sobre crescimento micelial de Botrytis cinerea.....	29
4.4.2 Ação dos extratos (aquosos e alcoólico) de canola sobre a germinação de conídios de Botrytis cinerea.....	29
4.5 PÓS-COLHEITA.....	30
4.5.1 Avaliação de podridões em pós-colheita de morangos.....	30
4.5.2 Avaliações físico-químicas em pós-colheita de morangos.....	31
4.5.3 Avaliações bioquímicas em pós-colheita de morangos.....	32
4.5.4 Análise de dados.....	34
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	35
5.1 AÇÃO DOS EXTRATOS (AQUOSOS E ALCOÓLICO) DE CANOLA SOBRE CRESCIMENTO MICELIAL E NA GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DO PATÓGENO.....	35
5.2 AVALIAÇÃO DE PODRIDÕES E DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS.....	38
5.3 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS.....	42
6 CONCLUSÕES.....	47
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	48
REFERÊNCIAS.....	49
APÊNDICES.....	61

1 INTRODUÇÃO GERAL

Até metade do século XIX, o controle de pragas agrícolas era realizado com o uso de produtos naturais. As grandes áreas de cultivo de plantas usadas para esse controle foram destruídas durante a segunda guerra mundial. Dessa forma, iniciou-se a busca a outros produtos, os sintéticos, que substituíssem os defensivos naturais (BETTIOL e MORANDI, 2009). Essa fase acarretou várias mudanças no setor agrícola, como a redução de práticas de rotação e consórcio de culturas, aumento das áreas cultiváveis e da produtividade (SAITO e LUCCHINI, 1998).

Anos mais tarde, os produtores começaram a observar que esses novos defensivos não controlavam as pragas por período muito longo, além de eliminar insetos benéficos, inimigos naturais e selecionar organismos resistentes. Com isso foi necessário aumentar a quantidade desses produtos, causando cada vez mais danos ambientais (BETTIOL e MORANDI, 2009).

Na agricultura convencional, os alimentos produzidos geralmente possuem resíduos de produtos químicos utilizados, pelo não cumprimento dos prazos de carência ou, então, pela intensidade de aplicação desses produtos nas culturas (SANTOS e MONTEIRO, 2004).

Pesquisas desenvolvidas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em parceria com a Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ) em 2002 mostraram que os níveis de agrotóxicos de 22,7% das frutas, verduras e legumes produzidos em sistema convencional e distribuídos para a comercialização nos Estados do Paraná, Minas Gerais, São Paulo e Pernambuco, estavam acima do limite permitido pela legislação. Das 1.278 amostras de produtos analisados, dentre eles, o morango, 81,2% continha algum tipo de resíduo químico.

O morango está entre as quatro hortaliças mais contaminadas por agrotóxicos pela sua elevada utilização durante a produção (ANVISA, 2010). Isso deve-se a alta incidência de doenças, nas diferentes fases do ciclo desta cultura. Dentre as doenças que se destacam em pós-colheita são a podridão de *Rhizopus*, causada por *Rhizopus stolonifer* (Ehrenberg: Fries) e o mofo cinzento, causado por *Botrytis cinerea* (Pers.: Fr.) (EMBRAPA, 2008).

Os danos por podridões em pós-colheita podem chegar a 40% em poucos dias, limitando a comercialização, principalmente para lugares mais distantes (BRACKMANN et al., 1999; BRACKMANN et al., 2001).

Normalmente o controle de podridões é feito com o uso de fungicidas, entretanto, já existem linhagens de patógenos resistentes a eles. Para reduzir o uso de produtos químicos no controle de doenças em frutos pós-colheita, dentre elas o mofo cinzento, obtendo frutos mais saudáveis, vários métodos alternativos vem sendo testados, como o biocontrole, atmosfera controlada e modificada, armazenamento refrigerado, indução de resistência e uso de extratos vegetais (MAZARO et al., 2007; GOUVEA et al., 2007)

Além do potencial fungistático ou fungicida das plantas, a pesquisa tem avançado sobre o efeito de extratos vegetais na indução de resistência para o controle de fitopatógenos. As plantas ativam suas defesas através de elicitores, agentes bióticos ou abióticos, os quais podem ser de natureza orgânica, inorgânica ou sintética, atuando como indutores de resistência (STICHER; MAUCH; METRAUX, 1997).

Quanto ao potencial de extratos vegetais, a canola vem despertando interesse por parte dos pesquisadores no controle de patógenos, por pertencer ao gênero das Brássicas, as quais possuem metabólitos, como os isotiocianatos, classificados como biocida. Resultados promissores, utilizando extratos de canola, foram obtidos no controle de fitopatógenos habitantes do solo (MOCCELIN, 2011). Apesar desse potencial das Brássicas, ainda existem poucos trabalhos, citados na literatura, utilizando canola como alternativa de controle de patógenos.

Com isso, considerando a carência de informações quanto ao potencial da canola vários trabalhos vêm sendo realizados pelo grupo de pesquisas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, utilizando este vegetal no controle de patógenos habitantes do solo, da parte aérea e em frutos pós-colheita. Nesses estudos foram obtidos resultados satisfatórios no controle de oídio (*Sphaerotheca fuliginea* Schlecht. ex Fr.) em pepineiro (*Cucumis sativus* L.) (PIVA, 2013) e no controle da podridão parda na pós-colheita em pêssego (*Prunus pérsica* (L.) Batsch) (FLORES, 2013), com o uso de extratos de canola.

Neste sentido o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial da canola no controle de *Botrytis cinerea* e do mofo cinzento em pós-colheita de morangos.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar o potencial de extratos de canola no controle de *Botrytis cinerea* e seu possível modo de ação.

2.2 ESPECÍFICOS

Avaliar o potencial de extratos de canola obtidos por extração alcoólica, maceração, infusão e aquoso sem tempo de reserva, sobre o crescimento micelial e germinação de conídios de *Botrytis cinerea*;

Avaliar o potencial de extratos de canola obtidos por extração alcoólica, maceração, infusão e aquoso sem tempo de reserva no controle do mofo cinzento na pós-colheita de morangos;

Avaliar o potencial de extratos de canola obtidos por extração alcoólica, maceração, infusão e aquoso sem tempo de reserva, sobre os parâmetros físico-químicos dos pseudofrutos de morangos, doravante somente chamados de pseudofrutos; e

Analisar o potencial dos extratos de canola no processo de indução de resistência nos pseudofrutos.

3 EMBASAMENTO TEÓRICO

3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DO MORANGUEIRO

O morangueiro pertence à família das Rosaceae e ao gênero *Fragaria*, sendo originário do Chile e da América do Norte. O cultivo do morangueiro iniciou-se após o século XIV, quando várias espécies de *Fragaria* começaram a ser cultivadas nos jardins europeus, com finalidade medicinal e ornamental. Esta hortaliça possui uma grande capacidade de adaptação à vários ambientes, podendo ter assim, uma grande distribuição a nível mundial (LARSON, 1994).

A produção mundial de morangos é de 3,1 milhões de toneladas, tendo como destaque os Estados Unidos da América (EUA) como os maiores produtores, seguido da Espanha e Rússia (DUARTE FILHO et al., 2007; AGRIANUAL, 2008).

No Brasil, a produção de morangos se difunde pelas regiões de clima temperado e subtropical (OLIVEIRA e SCIVITTARO, 2009), sendo quase toda produção voltada ao consumo interno, sendo cerca de 70% destinado ao consumo in natura (ANTUNES e REISSER JÚNIOR, 2007).

O cultivo brasileiro de morangos é realizado predominantemente em pequenas propriedades rurais, com mão de obra familiar (CAMARGO et al., 2008), tendo como os maiores produtores os Estados de Minas Gerais (MG), São Paulo (SP), Rio Grande do Sul (RS), Paraná (PR) e Santa Catarina (SC), respectivamente, sendo que o estado de MG, no ano de 2011, teve uma produção de 87,7 mil toneladas de morango, em uma área de 1.874,5 hectares (CARVALHO, 2012).

As qualidades do morango são avaliadas pela aparência, valor nutritivo, sabor e odor. A pigmentação dos frutos indica a sua maturação. As antocianinas são responsáveis pela coloração característica da maturação de morangos (DOMINGUES, 2000).

A sacarose, a frutose e a glicose são os principais açúcares presentes nesses frutos (CHITARRA e CHITARRA, 2005). Os aumentos dos teores de açúcares dos frutos aumentam à medida que a maturação do fruto avança, e isso se deve à transformação do amido em açúcares simples como frutose e glicose. (GIARDI et al., 2002).

3.2 DOENÇAS EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS

Uma das características naturais do morangueiro é ser muito perecível, na pós-colheita, sendo que as podridões podem agravar a situação, principalmente as causadas pelos patógenos *R. stolonifer*, e *Penicillium digitatum* (Pers.) Sacc e *B. cinerea* (BAUTISTA-BAÑOS et al., 2003).

O fungo *B. cinerea* agente causal do mofo cinzento, representa a fase assexuada do fungo *Botryotinia fukeliana* (De Bary). Este patógeno quando isolado em meio de cultura, suas colônias apresentam coloração acinzentada, produz conídios medindo entre 11 µm a 11-15 µm (MAAS, 1998; TANAKA, 2002).

É um patógeno saprófita em matéria orgânica e de difícil controle (MORANDI e MAFFIA, 2005). A grande produção de enzimas e toxinas desse patógeno facilita a sua ocorrência em vários gêneros de plantas (KAMOEN, 1992).

Umidade em torno de 90% e temperaturas entre 15 e 25 °C favorecem o desenvolvimento do patógeno (ALFENAS et al., 2004), sendo que a germinação é favorecida a 30 °C (JARVIS, 1989), e temperaturas entre 10 e 15 °C, favorecem a formação de escleródios (SHAUL et al., 1992).

Em casas de vegetação, a presença de água livre é uma das condições favoráveis que garantem a infecção por *B. cinerea*. O aumento da circulação de ar, seja abrindo as cortinas, utilizando equipamentos para ventilação, tendo maior espaçamento entre plantas, ou fazendo irrigação por gotejamento, reduz-se o filme de água que se deposita sobre a planta, dificultando assim a infecção do patógeno (MORANDI E MAFFIA, 2005).

A infecção se inicia em tecidos debilitados e, posteriormente, os tecidos saudáveis dos frutos são infectados (GOUVEA, 2007). A doença pode ocorrer desde folhas, botões florais e até mesmo frutos verdes. Além disso, os sintomas do mofo cinzento podem variar dependendo do hospedeiro e do órgão vegetal atacado e das condições climáticas.

Em frutos verdes as lesões são marrons, mas na maioria das vezes, os sintomas só aparecem no período de seu amadurecimento, ficando as lesões recobertas por um mofo acinzentado, que correspondem às estruturas de reprodução do patógeno, recobrindo toda superfície do fruto em pouco tempo (HELBIG, 2001; GOUVEA, 2007).

Os sintomas nas pétalas podem resultar em podridão mole, embora o tipo de hospedeiro e condições climáticas favoráveis possa mumificar os botões florais. A presença do patógeno em folhas é marcada pelo surgimento de manchas marrons (MORANDI e MAFFIA, 2005).

É um patógeno de difícil controle, por ser cosmopolita, polífago e possuir potencial de desenvolver epidemias rápidas e severas. Na ausência de hospedeiros, forma estruturas de resistência chamadas escleródios (MORANDI E MAFFIA, 2005).

No entanto, práticas sanitárias podem reduzir inóculo deste patógeno, prevenindo com isso, a disseminação do patógeno para plantas saudáveis. Estas práticas são feitas por meio da remoção de restos culturais, tais como folhas infectadas ou outros órgãos, uma vez que este patógeno esporula abundantemente neles. Com isso, os esporos do fungo podem ser transportados por agentes bióticos ou abióticos a longas distâncias, causando assim novas infecções (MORANDI e MAFFIA, 2005).

Predominantemente, o controle de podridões causadas por esse patógeno é realizado com o uso intensivo de produtos químicos, o que tem gerado problemas de ordem ambiental, alto custo de produção, resistência dos patógenos aos fungicidas, intoxicações, tanto em trabalhadores quanto em consumidores (TANAKA, PASSOS, BETTI, 1997; FERNANDES Jr. et al., 2002).

Os benzimidazóis e dicarboximidas eram os fungicidas específicos para o controle do mofo cinzento, mas por terem sido usados indiscriminadamente no controle deste patógeno, perderam sua importância, pelo surgimento de isolados resistentes a eles (FARETRA et.,al 1989; GULLINO, 1992).

Com isso, torna-se necessário então, o desenvolvimento de novas alternativas como a utilização de produtos naturais e biodegradáveis, na conservação dos frutos, para evitar tais problemas.

A redução das perdas pós-colheita também pode ser feita diminuindo danos mecânicos e mantendo os frutos armazenados de forma adequada, com alta concentração de CO₂ e em baixa temperatura (MAZARO et al, 2008b).

Outro mecanismo de controle, desse patógeno, é alteração de temperatura, como evidenciado por Elad e Volpin (1991), ao imergirem botões de rosa em água a 50°C por 20 a 40 segundos, provavelmente ressaltam eles, o tratamento térmico alterou o tecido do órgão, tornando-o mais resistente.

Em pós-colheita de uvas de mesa, o tratamento com vapor quente a 52,2 °C entre 21 e 24 minutos, reduziu em até 95% na podridão de bagas, podendo assim esse método substituir o uso de SO₂ nas embalagens desses frutos, com a vantagem de não permanecerem com resíduos tóxicos (LYDAKIS e AKED, 2003).

O manuseio da nutrição dos morangueiros também pode contribuir para reduzir a incidência desse patógeno. O cálcio aumenta a produção de pectina, tornando os frutos mais rígidos e, conseqüentemente, mais resistentes ao ataque de patógenos (LARA et al., 2004).

A aplicação de substâncias em pré e pós-colheita podem controlar doenças, aumentando a longevidade e qualidade de frutos, botões florais e outros produtos de interesse comercial, como evidenciado em trabalho desenvolvido por Ben-Shalom et al. (2003), quando aplicaram 50 ppm de quitosana, em plantas de pepino, antes da inoculação com *B. cinerea*, obtendo uma redução significativa no desenvolvimento do mofo cinzento. Mazaro et al. (2004) ao aplicarem quitosana e Acibenzolar-S-Metil em pré-colheita de morangos, também observaram que houve uma redução de podridão em frutos pós-colheita.

Gouvea (2009) utilizando levedura de *Saccharomyces cerevisiae* Meyen, obteve um resultado satisfatório na redução da incidência do mofo cinzento em pós-colheita em morangos.

O uso de produtos biológicos como os extratos vegetais, vem se destacando como uma das técnicas mais utilizadas para o controle de patógenos. Dentre os extratos vegetais, o extrato de canola vêm despertando interesse, sendo empregado no controle de fitopatógenos habitantes do solo, de partes aéreas e em frutos pós-colheita (MOCCELIN, 2011; PIVA, 2013; FLORES, 2013).

3.3 USO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DE PODRIDÕES DE FRUTOS EM PÓS-COLHEITA

Várias conseqüências são observadas em virtude do uso excessivo de produtos químicos para o controle de patógenos de frutos pós-colheita, ou mesmo de qualquer outro tecido vegetal, por provocar efeitos nocivos ao meio ambiente, animais e ao homem (SILVA et al., 2006).

Devido a isso, é de suma importância a busca de novas alternativas de controle de doenças em plantas, que sejam eficientes e ao mesmo tempo menos agressivas tanto para a saúde humana quanto para o equilíbrio do ecossistema (ROMEIRO, 1999).

Vários trabalhos utilizando extratos vegetais já foram realizados no controle de patógenos. Jamal et al. (2008) ao testarem a ação de extratos etanólicos brutos de *Alternanthera dentata*, *Alternanthera tenella*, *Lippia alba*, *Plantago major*, *Solanun cordifolium*, *Cecropia glaziovii* e *Helenium amarum*, sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum musae* (Berk & Curt.), agente causal da antracnose ou podridão pós-colheita da banana, constataram que apenas os extratos das espécies vegetais *H. amarum*, *A. dentata*, *L. alba* e *S. cordifolium* inibiram o crescimento micelial do patógeno.

Em outro estudo Ribeiro e Bedendo (1999) ao testarem várias concentrações de extratos aquosos de bulbilhos de alho, folhas de hortelã e mamona e frutos de pimenta, adicionados em meio de cultivo BDA fundente, observaram que as concentrações de 200 a 10000 ppm inibiram o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz), agente causal da podridão do mamoeiro. Já, os extratos aquosos de hortelã, mamona e pimenta, nas concentrações de 200 a 10000 ppm, também inibiu a produção de conídios deste patógeno.

Pedroso et al. (2009) também ao testarem extratos aquosos de arruda (*Ruta graveolens*), louro (*Laurus nobilis*), alho (*Allium sativum*) e manjerição (*Ocimum basilicum*) adicionados ao meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA), nas concentrações de 0; 10; 20 e 30% sobre o crescimento micelial de *Alternaria solani* (Ellis y Martin) Jones y Grout, verificaram que a partir da concentração de 10% já houve inibição do crescimento micelial do patógeno.

Já, Venturoso et al. (2011) ao testarem as concentrações de 0; 0,5; 1; 5; 10 e 20% de extratos aquosos de canela, cravo-da-índia e alho in vitro, sobre o crescimento micelial de *Cercospora kikuchii* (Matsu & Tomov) Gardner, *Fusarium solani* (Mart.), *Colletotrichum* sp. e *Phomopsis* sp. Constataram que o extrato aquoso de alho, na concentração de 9,7%, teve efeito apenas no crescimento micelial do fungo *C. kikuchii*. Para os outros patógenos, o extrato aquoso de canela e alho apresentaram maior atividade antifúngica com o aumento das concentrações. O extrato de cravo da Índia controlou o crescimento micelial de *Colletotrichum* sp., *C.*

kikuchii, *F. solani* e de *Phomopsis* sp., a partir das concentrações de 7,4, 7,5, 8,9 e 7,0%, respectivamente.

Extratos aquosos de cancarosa (*Jodina rhombifolia*), carqueja (*Baccharis trimera*), cinamomo (*Melia azeradach*), louro (*Laurus nobilis*) e pitangueira (*Eugenia uniflora*) também foram testados sobre o crescimento micelial de *C. gloeosporioides*. Os extratos de carqueja e cinamomo foram os mais eficientes, na concentração de 20% no decorrer das avaliações, iniciadas em 24 h após a implantação do experimento e com término às 96 h (MILANESI et al., 2009).

Souza et al. (2010) também ao avaliarem o efeito de doses crescentes (0; 5; 10; 20 e 40%) de extrato aquoso de *Arrabidaea bilabiata* Sandwith sobre o crescimento micelial e produção de escleródios de *Sclerotium rolfsii* (Sacc) e esporos de *Corynespora cassiicola* (Berk. & Curtis) Wei, verificaram que não houve controle do crescimento micelial de *C. cassiicola* mesmo na concentração mais alta de extrato pré-estabelecida neste estudo. No entanto, a dose de 40% reduziu em 50% o tamanho da colônia do fungo *S. rolfsii*, e a esporulação de *C. cassiicola*, nas doses 20 e 40% em 62% e 70% respectivamente, em relação ao tratamento testemunha.

Gouvea (2009), avaliou o efeito de diferentes preparações de *Saccharomyces cerevisiae* Meyen, sobre o desenvolvimento do mofo cinzento, flor preta, mancha de dendrofoma, mancha de micosferela, em morangueiro durante o desenvolvimento da cultura e em pós-colheita dos frutos, indicando que *S. cerevisiae* é um agente com potencial de biocontrole.

Ácidos fenólicos (cinâmico, ferúlico, gálico, salicílico e vanílico) e sais inorgânicos (bicarbonato de sódio, carbonato de potássio e cloreto de cálcio) foram testados no controle de podridões e na germinação de conídios de *B. cinerea*, agente causal do mofo cinzento e *Penicillium expansum* (Link) Thom, agente causal do bolor azul, em frutos de maçãs, nas concentrações de 1; 2,5; e 5 mM e 0,75%; 1,5% e 3%, respectivamente. Os ácidos cinâmico e salicílico nas doses 2,5 e 5 mM, inibiram completamente a germinação dos conídios dos patógenos. Somente o ácido salicílico controlou a doença causada por *P. expansum*. Dentre os ácidos inorgânicos, nas doses de 1,5% e 3%, o bicarbonato de sódio e o carbonato de potássio inibiram quase 100% da germinação dos conídios dos dois patógenos. No controle de podridões, o cloreto de cálcio teve o melhor resultado. Portanto no controle do bolor azul, apenas o ácido salicílico reduziu a severidade da doença nos

frutos. Os ácidos cinâmicos e salicílicos e os sais bicarbonato de sódio e carbonato de potássio tiveram efeito fungicida sobre o mofo cinzento (NETO, 2011).

Extratos de outros vegetais já foram testados com o objetivo de controlar *B. cinerea*, como evidenciado por Camatti-Sartori et al. (2011) ao testarem extratos acéticos e etanólicos de alecrim (*Rosmarinus officinalis*), cavalinha (*Equisetum giganteum*, L.), gengibre (*Zingiber officinale*), alho (*Allium sativum*, L.), camomila (*Matricaria recutita*), louro (*Laurus nobilis*), manjeriço (*Ocimum basilicum*), menta (*Mentha* sp) e eucalipto (*Eucalyptus globulus*), sobre o desenvolvimento de *Fusarium* sp. e *Botrytis* sp., isolados de flores de *Gerbera* sp. e *Rosa* sp. com sintomas de doença. O extrato etanólico de camomila inibiu em 52% o crescimento micelial de *Fusarium* sp. *Botrytis* sp. foi inibido com os extratos acéticos de menta, eucalipto e alecrim.

Extrato bruto aquoso de gengibre (*Zingiber officinalis*), reduziram significativamente a produção de escleródios e o crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, agente causal do mofo branco em alface (RODRIGUES et al., 2007).

A forma de preparação de extratos vegetais pode variar de acordo com a parte da planta utilizada, ou então do tipo de metabólito que se pretende obter, deixando o material vegetal em contato com um líquido extrator, normalmente água ou álcool. Podem ser utilizadas plantas verdes ou secas, através de maceração, infusão, decocção.

3.4 UTILIZAÇÃO DE BRÁSSICAS NO CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS

Entre os vários representantes do gênero das Brássicas encontra-se a canola pertencente à família das brassicaceae. Esta espécie vegetal é uma oleaginosa com potencial de incorporação nos sistemas de produção de grãos brasileiros, sendo que as duas espécies de canola que dominam a produção são *Brassica napus* L. e *Brassica rapa* L. (EMBRAPA, 2007), sendo apenas a primeira cultivada no Brasil. Esta espécie foi desenvolvida no Canadá a partir do melhoramento genético da colza, por apresentarem teores de glucosinolatos e ácido erúico em seus grãos mais elevados (TOMM et al., 2009).

O metabolismo secundário das Brássicas produz compostos conhecidos como glucosinolatos, que se acumulam nos tecidos desses vegetais, sendo responsáveis pelo sabor e odor característicos do gênero e ainda pela proteção contra o ataque de insetos e doenças (DAS; TYAGI; KAUER, 2000; TAIZ; ZEIGER, 2004).

Já foram identificados mais de 120 glucosinolatos. Estes glucosinolatos apresentam diferentes estruturas e são classificados como heterocíclicos glucosinolatos, hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos (BERNARDI, 2003; OERLEMANS et al., 2006). A quantidade desses compostos produzidos pelas plantas depende do local de cultivo e da espécie (SULTANA et al., 2002), pois fatores ambientais podem interferir nos teores de produção desses compostos, assim como o potencial de cada espécie em produzi-los pode ser diferente. Por exemplo, *Brassica juncea* (mostarda da Índia) e *Brassica napus* (canola), são espécies que apresentam alto teor de glucosinolatos em seus tecidos (KIRKEGAARD, 1996; GIMSING et al., 2006).

Esse gênero produz uma enzima chamada mirosinase responsável pela hidrólise dos glucosinolatos, formando gases como nitrilas, isotiocianatos, tiocianatos, com características inseticidas, nematocidas e fungicidas (BLOK et al. 2000; MITHEN, 2001; MORRA e BOREK, 2010).

Esses gases podem apresentar efeito na inibição do crescimento micelial de alguns patógenos, como evidenciado em trabalho desenvolvido por Kirkegaard et al. (1996) que ao testarem extratos das espécies *B. napus* e *B. juncea* sobre o desenvolvimento micelial de *R. solani* e *Phytophthora irregularis*.

A partir da fumigação do solo com óleo essencial da mostarda, composto de 90% de isotiocianato de alila (ITCA), foi possível controlar a epidemia da murcha de fusário, causada por *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, em tomateiro (LAGE, 2009).

Moccelin (2011) utilizando farelo de canola e mostarda em ensaio, in vitro, também verificou efeito positivo desses produtos na redução do crescimento micelial de *P. aphanidermathum*, *R. solani* e *S. rolfii*. Além disso, esse autor ao incorporar folhas de repolho no solo, constatou que essa espécie vegetal também reduziu significativamente as doenças ocasionadas por *P. aphanidermathum* em pepino.

Além da utilização das Brássicas no controle de fitopatógenos habitantes do solo, trabalhos mais recentes e promissores foram realizados por Flores (2013). Este autor ao testar vários extratos vegetais, entre eles o de canola, obtidos por diferentes formas de extração (infusão, alcoólico, maceração e aquoso sem tempo de reserva) no controle da podridão parda em pós-colheita de pêssego, causada por *Monilinia fructicola*, na germinação de conídios e no crescimento micelial deste patógeno, constatou que todos os tratamentos testados reduziram significativamente o crescimento micelial, a germinação de conídios e a podridão parda. Resultados similares foram obtidos por Piva (2013) ao avaliar os mesmos extratos de canola, porém no controle de oídio em pepineiro, constatou novamente que o extrato de canola teve efeito na redução da doença.

3.5 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PLANTAS À PATÓGENOS

As plantas apresentam fatores de resistência contra o ataque de agentes externos, como patógenos. Os fatores pós-formados são ativados ou produzidos na presença de um patógeno, já os pré-formados estão presentes no vegetal antes mesmo do contato com estes (TAIZ & ZEIGER, 2004). Os fatores se subdividem em estruturais, atuando como barreiras físicas e bioquímicos que produzem substâncias tóxicas aos patógenos ou criam condições adversas à eles, dificultando sua disseminação na planta (PASCHOLATI & LEITE, 1994).

Elas podem ativar suas defesas através de elicitores, agentes bióticos ou abióticos, os quais podem ser de natureza orgânica, inorgânica ou sintética, atuando como indutores de resistência (STICHER; MAUCH; METRAUX, 1997).

Quando um eliciador entra em contato com os tecidos vegetais, inicia a síntese de substâncias que atuam como sinais bioquímicos, os quais se difundem por todo vegetal, ativando genes de resistência (BECKER e SPOEEL, 2006; VAN LOON et al.,1998).

Insetos, vírus, bactérias e fungos são alguns exemplos de agentes bióticos, responsáveis pela ativação de defesa sistêmica ou localizadas nas plantas (DUKE et al., 1987).

Em 1901, Ray e Beauverie descrevem o primeiro relato de indução de resistência em begônia, utilizando esporos atenuados de *B. cinerea*, e relacionando a indução com as condições ambientais de cultivo (VALLAD & GOODMAN, 2004).

No Brasil foram desenvolvidos os primeiros estudos sobre indução de resistência das plantas em 1970, no Instituto Biológico de São Paulo, utilizando *Saccharomyces cerevisiae*, goma xantana, *Bacillus thuringiensis* e uredósporos inativados de *Hemileia vastatrix*, contra *Hemileia vastatrix* em cafeeiro (BONALDO, PASCHOALATI; ROMEIRO, 2005).

Terry e Joyce (2004), classificam a indução de resistência provocada pelos elicitores, em resistência local adquirida (RLA), resistência sistêmica induzida (RSI) e resistência sistêmica adquirida (RSA).

A Resistência Sistêmica Adquirida (RSA – Systemic Acquired Resistance) geralmente é induzida por patógenos ou ativadores químicos, e envolve vários mecanismos como: resposta de hipersensibilidade, acúmulo de Proteínas Relacionadas com Patogênese (PRPs) formação de papilas, lignificações, ativação de enzimas como peroxidases e a fenilalanina amônia-liase (FAL) (LEE et al., 1995; DURRANT & DONG, 2004; STICHER et al., 1997; CAVALCANTI et al., 2005).

Nos espaços intercelulares das células vegetais encontram-se as proteínas ácidas (PRPs), já as básicas estão presentes também no vacúolo (HEIL & BOSTOCK, 2002). Entre as PRPs mais estudadas estão as β -1,3-glucanases (PR-2) e as quitinases (PR-3) que hidrolisam os polímeros estruturais encontrados nas paredes dos patógenos (LABANCA, 2002).

Na hipersensibilidade, ocorre necrose ao redor do tecido vegetal atacado pelo patógeno, sem afetar o restante do vegetal (TAIZ & ZEIGER, 2004). A lignificação estabelece barreiras mecânicas ao patógeno, modificando a parede celular, tornando-a mais resistente contra o ataque das enzimas hidrolíticas e evitando a difusão de toxinas produzidas pelo patógeno, evitando assim seu crescimento e avanço para os tecidos vegetais (PASCHOLATI & LEITE, 1994).

Um grupo de glicoproteínas chamada peroxidases, não possuem ação direta na RSA, mas a alteração de sua atividade indica alteração no metabolismo da planta, pois atuam na catalização da produção de lignina, destruição peroxidativa de reguladores de crescimento, além de atuarem sobre as espécies ativas de oxigênio (EAOs), livrando a célula de seu efeito deletério (LABANCA, 2002).

A fenilalanina amônia-liase (FAL) é encontrada nas membranas dos tilacóides dos cloroplastos, e por estar situada num ponto de ramificação entre o metabolismo primário e secundário, e por catalizar a etapa que regula a formação de compostos fenólicos, provavelmente, seja a enzima mais estudada do metabolismo secundário das plantas (TAIZ & ZEIGER, 2004). A FAL está envolvida no processo de formação de lignina, flavonoides, cumarinas e ésteres (CAVALCANTI et al., 2005).

Os compostos fenólicos vegetais como os flavonoides e lignina possuem ação antimicrobiana, outros atuam como atrativos de agentes polinizadores, na defesa contra herbivoria, redução do crescimento de plantas competidoras, entre outras funções (TAIZ & ZEIGER, 2004).

Com a vantagem de não poluírem o meio ambiente, tanto óleos essenciais quanto extratos vegetais, têm demonstrado grande potencial no controle de patógenos, como relatado por Mazaro et al. (2008a), utilizando diferentes preparados com folhas de pitangueira (*Eugenia uniflora*), identificaram que estes possuem potencial de indutor de fitoalexinas gliceolinas em cotilédones de soja, sendo o controle proporcional ao aumento das concentrações dos preparados e que o óleo essencial desta planta apresenta efeito na indução de fitoalexinas superior aos demais preparados.

Reuveni (1999), ao inocular uma suspensão de esporos de *Plasmopora viticola*, agente causal do mildio, em videiras, verificou uma resposta de proteção contra outro patógeno da cultura, o *Uncinula necator*, tendo uma redução na taxa de germinação dos conídios.

A levedura *Saccharomyces cerevisiae* apresenta elicitores em sua parede celular, fato que levou cientistas desenvolverem pesquisas envolvendo essa levedura, na tentativa de controlar doenças em plantas, como demonstrado por Martins et al. (1986), aplicando filtrado do extrato de *S. cerevisiae* em folhas destacadas de café Mundo Novo, 72 horas antes da inoculação com *H. vastatrix*, agente causal da ferrugem alaranjada, verificaram uma redução significativa da doença, comprovando a indução de resistência ao patógeno.

Extrato de casca de café e acibenzolar-S-metil induziram resistência em mudas de cafeeiro contra *C. coffeicola* (PEREIRA et al., 2008).

Foi verificado por Swinburne et al. (1975), que filtrados de *Bacillus subtilis*, uma bactéria gram-positiva, controlaram *Nectria galligena*, agente causal da

escaldadura foliar da macieira, bem como observado por Vasudeva e Chakravarthi em 1954, no controle de *Alternaria solani*, agente causal da pinta preta da batata.

O ácido salicílico (AS), um composto fenólico muito utilizado na medicina humana, têm demonstrado interesse científico como indutor químico de resistência, como relatado em trabalho desenvolvido por Dat et al. (1998), sob a aplicação de AS exógeno em folhas de *Sinapsis alba*, resultou em níveis elevados de H₂O₂ endógeno, comprovando sua importância como ativador de rotas metabólicas, na autodefesa vegetal.

Estudo conduzido por Latunde-Dada e Lucas (2001), demonstrou que o aumento da resistência dos tecidos, induzidos por ASM em plantas de *Vigna unguiculata* inoculadas com *Colletotrichum destructivum*, esteve associado com o aumento da atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase (FAL) e chalcona isomerase (CHI), provocando acúmulo de flavonoides, faseolidina e kievitonas.

Outra substância importante no metabolismo vegetal é o ácido jasmônico (AJ), encontrado em todos os órgãos, participando nos fenômenos de abertura e fechamento de estômatos, crescimento de raízes, entre outros (STICHER et al., 1997).

Indutores físicos como a temperatura, também possui efeito na indução de resistência, como sugerido por Ergon et al. (1998), que baixas temperaturas (12-18°C) induzem a produção de proteínas – RP, tendo um efeito condicionante em trigo.

Mazaro et al. (2008), relatam que a aplicação de quitosana nas doses de 0,5; 1,0 e 2,0%, reduziu a podridão em pós-colheita de morangos, ativou a resistência das plantas, além de retardar a maturação dos frutos, manteve firmeza de polpa e acidez titulável, e reduziu perda de massa, apesar da dose 2,0% ter aumentado a taxa respiratória e o teor de açúcares redutores, causando danos nos frutos. Já a aplicação de ASM, reteve acidez titulável e podridão dos pseudofrutos, na dose de 0,0025%, e não interferiu na qualidade dos morangos.

A adição de silicato de sódio na proporção de 2 ml/litros de solo, induziu resistência do sorgo ao pulgão-verde (MORAES e CARVALHO, 2002).

Quitosana e preparados de *Eugenia uniflor* induziram fitoalexinas gliceolinas em cotilédones de soja, em resposta ao aumento das concentrações, no entanto o óleo essencial teve um efeito superior aos demais preparados, dessa forma podem ser utilizados como indutores de resistência (MAZARO et al., 2008).

Derivados aquosos de aveia possuem ativaram mecanismos de defesa em soja e em sorgo, sendo que o extrato obtido por decocção teve um efeito mais significativo, em relação aos obtidos por infusão e maceração (MEINERZ et al., 2008).

Resultados obtidos por Guginski et al. (2011) demonstraram que o metabolismo secundário das plantas submetidas a tratamentos com extratos de canola, foram ativados promovendo a indução de resistência contra fitopatógenos. Isso pode ser um indicativo de que os extratos de canola podem induzir a resistência de morangos contra *B. cinerea*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no ano de 2011 no Laboratório de Microbiologia e Fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Câmpus de Pato Branco, e no ano de 2012 no Laboratório de Fitossanidade da UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos.

4.1 OBTENÇÃO DAS PLANTAS DE CANOLA

Para a realização dos experimentos em 2011 foram utilizadas plantas de canola “Hyola 60”, obtidas de lavouras da região de Pato Branco, no estágio de florescimento. Logo após a colheita das plantas, estas foram selecionadas, eliminando-se as partes doentes e danificadas. Em seguida, as plantas foram colocadas em bandejas de alumínio e levadas para estufa de secagem a 45°C até atingirem peso constante.

Após, estas foram armazenadas em sacos plásticos na ausência de luz até sua utilização. Já, as utilizadas para a montagem dos experimentos em 2012 foram da mesma cultivar, porém, estas foram cedidas pela EMBRAPA Passo Fundo, já desidratadas e provenientes, da região de Passo Fundo - RS.

4.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS DE CANOLA

a) Extrato alcoólico: para obtenção deste extrato, 80 gramas de material vegetal picado de canola desidratados e 420 ml de álcool de cereais foram colocados em um frasco tipo Becker e armazenado por 48 h na ausência de luz, a temperatura ambiente (+/- 25°C). Após este período, o extrato vegetal, foi filtrado, obtendo-se um total de 380 ml.

Na sequência foi removido o etanol presente na solução por meio do evaporador rotativo por 1 hora e 30 minutos a temperatura de 60 °C. O restante do resíduo da evaporação (30 ml) foi dissolvido em água destilada até completar o volume da solução de 380 ml.

4.2.2 Extratos aquosos

a) Infusão: Em um pote plástico foram adicionados 420 ml de água destilada aquecida a 100°C sobre 80 gramas de material vegetal desidratado picado. Em seguida, o pote plástico foi fechado, e armazenado por 20 minutos, na ausência de luz, a temperatura ambiente (+/- 25°C).

Após o extrato vegetal foi filtrado em dupla camada de gaze, obtendo-se 170 ml.

b) Maceração: trituraram-se em liquidificador, em velocidade média, 80 gramas de material vegetal desidratado, com 420 ml de água destilada fria. O extrato foi transferido para um pote plástico, onde permaneceu em repouso por 8 h, na ausência de luz e a temperatura ambiente (+/- 25°C). Em seguida, o extrato vegetal foi filtrado em dupla camada de gaze, obtendo-se 200 ml.

c) Aquoso sem tempo de reserva: para a obtenção deste extrato, trituraram-se em liquidificador, em velocidade média, 80 gramas de material vegetal desidratado, com 420 ml de água destilada fria. Logo em seguida, o extrato vegetal foi filtrado em dupla camada de gaze, obtendo-se 350 ml.

A concentração inicial dos extratos de canola obtidos pelos diferentes modos de extração foi de 16%. A partir desta concentração foram realizadas diluições com água destilada, obtendo-se as demais concentrações de 3; 6; 9 e 12%.

4.3 OBTENÇÃO E ISOLAMENTO DO PATÓGENO

O fungo *Botrytis cinerea* utilizado neste estudo, foi isolado de morangos que apresentavam sintomas característicos da doença, mofo cinzento, previamente obtido de supermercados, no município de Pato Branco - PR.

Após a obtenção da cultura pura do patógeno, este foi repicado em placas de Petri contendo meio de cultivo Batata Dextrose Ágar (BDA) e armazenado em geladeira a 4 °C até a sua utilização.

4.4 MONTAGEM DOS EXPERIMENTOS IN VITRO

4.4.1 Ação dos extratos (aquosos e alcoólico) de canola sobre crescimento micelial de *Botrytis cinerea*

No centro de cada placa de Petri contendo meio de cultivo BDA, foi depositado um disco de 0,5 cm de diâmetro contendo micélio do fungo *B. cinerea* previamente crescido por 7 dias em placas de Petri contendo meio de cultivo BDA. Em seguida as placas foram abertas e com pipeta automática foram adicionados 2 ml dos respectivos extratos de canola e concentrações, nas tampas das placas. Logo após, as placas foram fechadas de maneira invertida. Deste modo, não ocorreu contato entre os extratos e o patógeno. As placas foram armazenadas à temperatura de 24 °C e um fotoperíodo de 12 h, em câmaras de crescimento. As mensurações do crescimento micelial do patógeno foram realizadas com régua graduada, 96 h após a implantação do experimento.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 5 (métodos de extração: alcoólica, infusão, maceração e aquoso sem tempo de reserva, concentrações: 0; 3; 6; 9 ou 12%), com quatro repetições. A unidade experimental foi uma placa de Petri com 9 cm de diâmetro. Na concentração zero utilizou-se água destilada.

4.4.2 Ação dos extratos (aquosos e alcoólico) de canola sobre a germinação de conídios de *Botrytis cinerea*

Para a montagem deste experimento foram utilizados tubos de ensaio com tamanho de 15 cm x 160 mm. Em cada tubo foi adicionado 20 ml dos respectivos extratos de canola e concentrações, citadas anteriormente, e 1 ml de suspensão de 10^5 conídios/ml, que após ser diluída no extrato, passou a ter uma concentração de 5×10^3 conídios/ml do patógeno. Os tubos foram vedados, com papel filme e armazenados a temperatura de 24°C com fotoperíodo de 12 h. As avaliações de germinação de conídios foram realizadas 9 h após a implantação do experimento.

Para avaliação da germinação foram pipetados 40 µl de cada tubo de ensaio sobre uma lâmina de microscópio e observadas em microscópio óptico, no

aumento de 40 X. Foram avaliados 60 conídios por tubo de ensaio, sendo considerados germinados, os que emitiram tubo germinativo com tamanho maior ou igual a duas vezes o diâmetro original do conídio.

Durante a avaliação, buscando reduzir a germinação de conídios, os tubos de ensaio referentes as demais parcelas foram mantidos em geladeira a 4 °C.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em fatorial 4 x 5 (métodos de extração: alcoólica, infusão, maceração e aquoso sem tempo de reserva, concentrações: 0; 3; 6; 9 e 12%), com quatro repetições. A unidade experimental foi um tubo de ensaio. Na concentração zero utilizou-se água destilada.

4.5 PÓS-COLHEITA

4.5.1 Avaliação de podridões em pós-colheita de morangos

Para os experimentos do ano 2011 foram utilizados morangos sadios “Camarosa”, oriundos de uma propriedade rural orgânica do município de Novo Horizonte (SC). Após a colheita, os pseudofrutos foram selecionados de acordo com a maturidade, eliminando-se os danificados e retirando-se as sépalas dos pseudofrutos, com o objetivo de reduzir a fonte de inóculo.

Neste estudo testaram-se os quatro tipos de extratos, como descrito no item 4 (extrato alcoólico, infusão, maceração e aquoso sem tempo de reserva) na concentração de 16%, sendo que para o tratamento testemunha utilizou-se água destilada. Os pseudofrutos foram imersos nos diferentes extratos em frasco tipo becker por três minutos, e em seguida, foram colocados sobre papel toalha em bancada e secos a temperatura ambiente (+/- 25°C). Após seis horas, os pseudofrutos foram inoculados com *B. cinerea*, previamente crescido em placas de Petri contendo meio de cultivo BDA, pulverizando-se com uma suspensão aquosa calibrada para 10⁵ conídios/ml, até o ponto de escorrimento. Na sequência, os morangos foram colocados individualmente sobre um suporte plástico cilíndrico de PVC, de 2 cm de diâmetro, 1 cm altura, e, posteriormente, acondicionados em bandejas plásticas de bolo fechadas. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições por tratamento, sendo a parcela composta por 10 pseudofrutos/bandeja.

As bandejas foram mantidas em câmara de crescimento, a uma temperatura de 24 °C e um fotoperíodo de 12 h. As avaliações de incidência de podridão foram realizadas quando a primeira bandeja apresentou 50% dos pseudofrutos com sintomas típicos de podridões causadas pelo patógeno, cerca de dois dias após a implantação do experimento.

Já no ano de 2012, para as avaliações de podridões, seguiu-se a mesma metodologia do ano de 2011, no entanto, além do experimento retirando-se as sépalas dos morangos, realizou-se um experimento complementar independente mantendo-se as sépalas, já que os morangos são comercializados dessa forma.

4.5.2 Avaliações físico-químicas em pós-colheita de morangos

Para estas avaliações utilizaram-se os morangos sadios remanescentes da avaliação anterior, de incidência de podridões, causadas por *B. cinerea*. Os parâmetros avaliados foram perda de massa, firmeza de polpa, teor de sólidos solúveis totais e acidez titulável.

A perda de massa foi realizada pesando-se inicialmente as bandejas contendo os pseudofrutos e os suportes plásticos, em seus respectivos tratamentos, e ao final da avaliação de podridões, desprezando o peso da bandeja e dos suportes plásticos, tendo assim, o peso final dos morangos.

A firmeza da polpa foi realizada em cinco pseudofrutos por parcela, sendo determinada em uma das faces laterais de cada morango, com um penetrômetro TR, modelo RT – 327, ponteira de 8 mm de diâmetro. Os resultados foram expressos em libras/cm² e transformados para Newton.

Para análise da acidez titulável foram utilizados sucos provenientes dos cinco pseudofrutos utilizados na avaliação da firmeza da polpa, previamente macerados, em almofariz, até serem completamente desmanchados. Foram utilizados 10 ml deste suco e acrescentados nele 90 ml de água destilada. A partir desta solução foi avaliado o pH com peagâmetro Tecnal, modelo TEC – 3MP. Posteriormente, para determinação da acidez, a solução foi titulada com NaOH 0,1N até atingir valor de pH 8,1. Para expressar a acidez em gramas de ácido cítrico por 100 ml de suco, foi realizado o seguinte cálculo (AOAC, 1997):

g de ácido cítrico/100 ml = $(64,02 \times N \text{ NaOH} \times V \text{ Na OH}) / V_{\text{amostra}}$

Sendo:

N = normalidade

V = volume.

O teor de sólidos solúveis totais dos frutos foi analisado a partir de uma gota do suco, macerado para a avaliação de acidez titulável, analisado com refratômetro digital Takemura.

4.5.3 Avaliações bioquímicas em pós-colheita de morangos.

Estas avaliações foram realizadas a partir de tecidos sadios, coletados dos mesmos pseudofrutos utilizados para as análises físico-químicas. Após a coleta, o material foi armazenado em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, até as avaliações.

Para dosagem de proteínas totais, as amostras da polpa dos morangos foram maceradas em almofariz com 10 ml de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,5). Em seguida, o material foi centrifugado (14.000g / 10 min a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$) e o sobrenadante coletado. Para quantificação do conteúdo total de proteínas das amostras foi empregado o teste de Bradford (1976). A leitura de proteínas totais foi realizada em espectrofotômetro a 630 nm, utilizando soro albumina bovina como padrão.

Para a quantificação de flavonoides e antocianinas pesou-se 1 g da polpa de morango, macerado posteriormente em almofariz, juntamente com 25 ml da solução extratora, formada por etanol 95% + HCl 1,5 N (HCl 1,5 N = 125 ml de HCl puro para análise (P.A.) + 875 ml de água destilada) na proporção de 85:15, ou seja, 850 ml de etanol 95% para 150 ml de HCl 1,5N quando para 1000 ml. Após a maceração, os extratos foram acondicionados em tubos de ensaio ao abrigo da luz e refrigerados por aproximadamente $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, por um período de 20 horas. Após este período, os extratos foram filtrados, lavados com mais 25 ml da solução extratora e deixados em repouso em frasco coberto por papel alumínio por 2 horas. Posteriormente retirou-se 1 ml da amostra o qual foi adicionado a 10 ml da solução extratora, em tubo de ensaio e agitado em vórtex. Na sequência foi feita a leitura das

amostras no espectrofotômetro a 374 nm, para obtenção da absorvância de flavonoides e a 535 nm para obtenção da absorvância de antocianinas.

Para avaliação das peroxidases utilizou-se o método de Matsumo e Uritami (1972). Para isto, pesou-se 1,0 g de polpa de morango de cada um dos respectivos tratamentos. Em seguida, as amostras foram transferidas para almofariz previamente gelado juntamente com 4 ml da solução tampão fosfato 0,05 M pH 7, e 0,005 g de polivinilpirrolidona, sendo macerada a mistura completamente. Após a maceração, a mistura foi centrifugada por 20 minutos a 5.000 rpm a 4 °C, transferindo-se separadamente 3 ml do sobrenadante para tubos de ensaio contendo 5 ml tampão citrato pH 5,0 mais 0,5 ml água oxigenada 3% mais 0,5ml de guaiacol 0,5%. Em seguida, os tubos foram então agitados no vórtex e colocados por 15 minutos em banho Maria a 30 °C e 10 minutos em gelo. Na sequência, 0,5 ml de bisulfito de sódio foi acrescentado em cada amostra. Os tubos foram brevemente agitados em vórtex para proceder as leituras espectrofotométricas a 450 nm.

Para quantificação da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) foi pesado 1,0 g de polpa de morango de cada um dos respectivos tratamentos. Após a pesagem, as amostras foram transferidas para almofariz previamente gelado, acrescentando-se 6,0 ml do tampão de extração, a 4 °C, macerando-se a mistura completamente, e centrifugando-a em seguida, a 6000 g por 10 min a 4 °C. O sobrenadante foi diluído antes da análise da atividade enzimática e da determinação da proteína solúvel, pipetando-se 200 µl do mesmo e acrescentando-se 5 ml do tampão de extração (22,2 g de Tris; 0,37 g de EDTA; 85,5 g de sacarose; 10 g de PVP). Nesta solução completou-se o volume para 1000 ml de água destilada, após ajustar o pH para 8,0 com ácido clorídrico 2,0 N. A atividade da FAL foi avaliada com base na diferença de absorvância resultante da conversão da fenilalanina em ácido trans-cinâmico (HYODO; KURADA; YANG, 1978). Para isto, foi pipetado em tubos de ensaio 1,5 ml de cada extrato enzimático, acrescentando-se 1,0 ml do tampão de extração e 0,5 ml de fenilalanina (49,6 mg ml⁻¹) ou água destilada na prova em "branco". A mistura foi incubada a 40°C por uma hora, interrompendo-se a reação com banho de gelo e procedendo-se as leituras espectrofotométricas a 290 nm (RODRIGUES; BEZERRA; COELHO, 2006).

No ano de 2011 e 2012 as atividades enzimáticas foram realizadas no final do experimento. Além disso, em 2012, as avaliações também foram realizadas no momento da implantação do experimento, e com intervalos de doze horas até o

término do experimento, para buscar uma melhor resposta dos indutores sobre a atividade enzimática, avaliando o comportamento enzimático da FAL e das peroxidases, no decorrer do tempo. Nestas avaliações foram utilizadas parcelas destrutivas, de onde os morangos foram retirados para tais análises.

4.5.4 Análise de dados

Os dados de todas as variáveis analisadas foram submetidos à análise de variância e quando significativos, os dados qualitativos, foram submetidos ao Teste de médias de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Para os tratamentos quantitativos, onde houve efeito significativo, utilizou-se análise de regressão, determinando-se assim os modelos matemáticos para explicar o comportamento das variáveis como as concentrações dos extratos aplicados.

Os dados foram analisados pelo programa estatístico ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2002).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 AÇÃO DOS EXTRATOS (AQUOSOS E ALCOÓLICO) DE CANOLA SOBRE CRESCIMENTO MICELIAL E NA GERMINAÇÃO DE CONÍDIOS DO PATÓGENO

Nestes estudos, não houve interação significativa entre os fatores estudados (modos de extração de extratos de canola x concentrações de extratos de canola) sobre o crescimento micelial e a germinação de conídios de *B. cinerea* (Figuras 1 e 2). Ao analisar os fatores isoladamente observam-se apenas diferenças entre as concentrações dos extratos de canola pré-estabelecidas tanto para o crescimento micelial como para a germinação de conídios de *B. cinerea* (Figuras 1 e 2).

Para o crescimento micelial, o ponto de máxima eficiência técnica foi obtido na concentração de 8,3%, com uma inibição de 34,4% sobre crescimento micelial do patógeno (Figura 1).

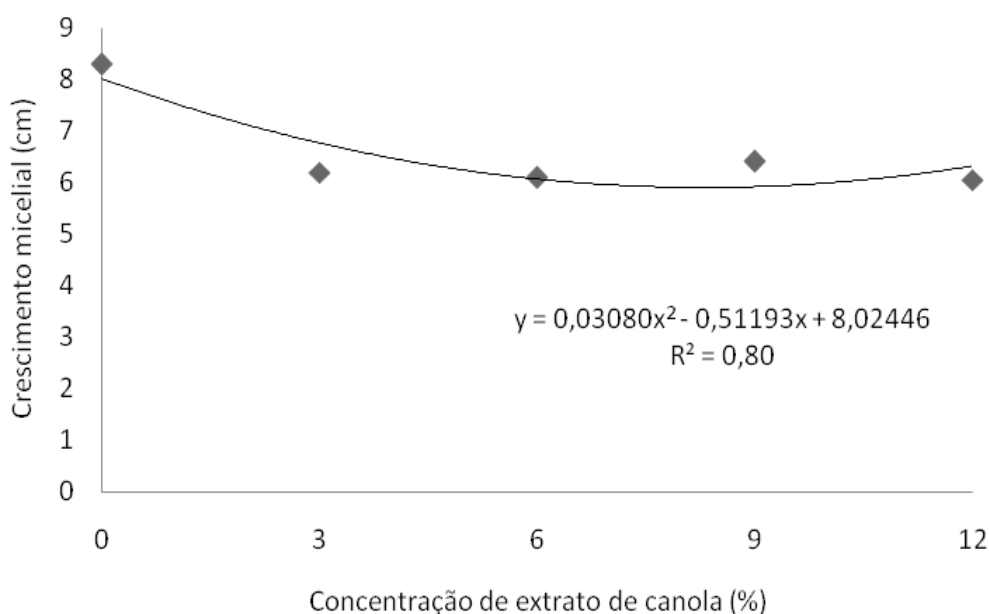


Figura 1 - Efeito de concentrações de extratos de canola sobre o crescimento micelial de *Botrytis cinerea*, crescido por 96 h em meio de cultivo BDA, a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h. UTFPR, Pato Branco – PR, 2012.

Para a germinação de conídios, o comportamento foi linear decrescente, ou seja, com o aumento das concentrações dos extratos pré estabelecidas, neste estudo, ocorreu menor percentagem de germinação de

conídios de *B. cinerea* (Figura 2). O ponto de máxima eficiência técnica foi de 11,2% de extrato de canola, com uma inibição da germinação de conídios de 24,4% (Figura 3).

No tratamento realizado com extrato aquoso sem tempo de reserva, não foi possível avaliar a germinação de conídios de *B. cinerea*, devido à presença de resíduos da canola no extrato, dificultando o reconhecimento dos conídios do fungo.

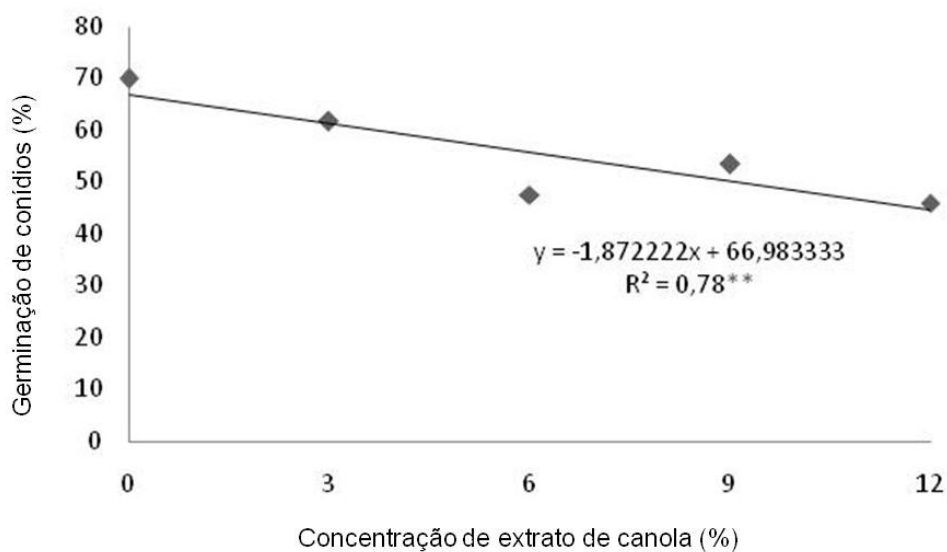


Figura 2 - Efeito de concentrações de extratos de canola sobre a percentagem de germinação de conídios de *Botrytis cinerea*, germinados em tubo de ensaio por 9 h, a 25 °C, com fotoperíodo de 12 h . UTFPR, Pato Branco – PR, 2012.

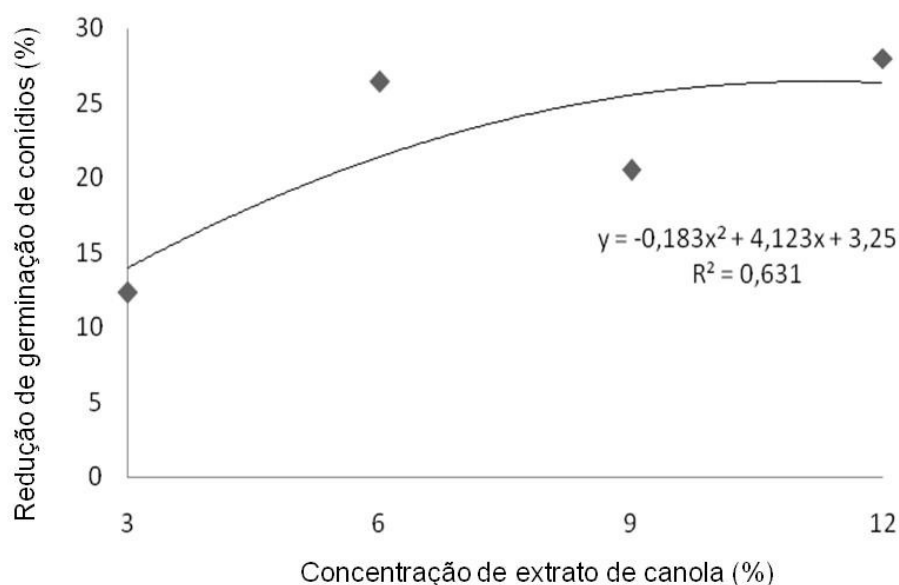


Figura 3 – Eficiência dos extratos de canola no controle da germinação de *Botrytis cinerea*. UTFPR, Pato Branco – PR, 2012.

O efeito de extratos de plantas da família das Brássicas como *B. napus* e *B. juncea*, sobre o parâmetro de crescimento micelial, já foi comprovado por Kirkegaard et al. (1996), ao testarem os extratos dessas duas espécies sobre o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e *Phytophthora irregularis*. Os autores constataram que *R. solani* foi mais sensível ao tratamento do que *P. Irregularis*, apresentando maior supressão micelial. Quanto as duas espécies avaliadas, *B. juncea*, foi mais supressiva na fase de maturação e floração, do que a *B. napus*.

Trabalho similar também foi desenvolvido por Moccelin (2011), ao testar o efeito de extratos de diferentes espécies de Brássicas, repolho, canola e mostarda, sobre o crescimento micelial de *P. aphanidermathum*, *R. solani* e *Sclerotium rolfsii*. O autor constatou que o pó da canola reduziu o crescimento micelial dos patógenos, com o aumento das doses. Em outro estudo, Freire et al. (2003), utilizando Brássicas, ao testarem a ação antifúngica de compostos voláteis liberados pelos resíduos de *B. juncea* e duas variedades de *B. napus* contra o fungo *Fusarium oxysporum*, isolados 9321A, 9312F, 9051C e 9243G, também observaram que estas espécies vegetais apenas inibiram o crescimento micelial e germinação de conídios do isolado 9321A de *F. oxysporum*.

Também Flores (2013) testando extrato aquoso, alcoólico, maceração e infusão, no controle *in vitro* e *in vivo* de *Monilinia fructicola* (Wint.) Honey, agente causador da podridão parda em pêssago, evidenciou que os extratos inibiram a germinação de conídios do patógeno e o crescimento micelial. O extrato de canola na concentração de 10% apresentou melhor resultado, com 78 e 69% de controle em duas avaliações realizadas, respectivamente.

Pelos resultados obtidos neste estudo (Figura 1), possivelmente tal efeito fungicida também seja devido aos compostos voláteis, presentes no extrato, como os glucosinolatos, que quando hidrolisados pela enzima mirosinase, formam gases voláteis, a exemplo dos isotiocianatos, que podem apresentar efeito supressor no crescimento micelial de alguns patógenos. Tal hipótese é sugerida, pois os diferentes extratos de canola testados, não tiveram contato direto com o patógeno, e, mesmo assim, apresentaram efeito supressor no crescimento micelial de *B. cinerea*. Além disso, pressupõe-se que possam existir outros compostos responsáveis pelo controle, visto que, o extrato alcoólico foi rotineiramente evaporado. Com isso, aumentou a possibilidade de volatilização dos compostos voláteis e mesmo

assim reduziu significativamente o crescimento micelial e a germinação de conídios de *Botrytis cinerea* (Figuras 1 e 2).

Os resultados de germinação de conídios obtidos nesse experimento (Figura 2), vieram a corroborar com os obtidos por Flores (2013), onde os extratos de canola, obtidos por extração aquosa, infusão, maceração inibiram em 90, 84 e 89% respectivamente a germinação de esporos de *Monilinia fructicola*, agente causal da podridão parda em pêssegos, comprovando o potencial da canola no controle de fitopatógenos. No entanto, no presente estudo não foi observado diferença entre os modos de extração.

Também Almeida et al. (2009), avaliando os extratos vegetais de nim, capim limão, vinca, losna e arruda, sobre *Colletotrichum acutatum*, observou que todos os extratos aquosos obtidos por maceração foram eficientes no controle da esporulação, no entanto quando utilizada a solução hidroalcoólica, o extrato de arruda foi mais eficiente, seguido por losna e vinca. No presente estudo houve diferença entre os modos de extração somente nos experimentos *in vivo* (Tabela 1).

Com base nos dados obtidos neste estudo, comprovou-se o potencial dos extratos de canola no controle *in vitro* de *B. cinerea*.

5.2 AVALIAÇÃO DE PODRIDÕES E DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS.

No ano de 2011, apenas os extratos alcoólico e maceração reduziram significativamente a podridão causada por *B. cinerea*, com um controle de 83,3% e 50%, respectivamente, em relação ao tratamento testemunha (Tabela 1).

No ano de 2012, ao repetir o experimento, confirmou-se o efeito significativo no controle da podridão (Tabela 1). Resultado similar também foi observado no outro experimento realizado neste mesmo ano, no qual, mantiveram-se as sépalas dos morangos (Tabela 1). Além disso, neste estudo, o extrato obtido por meio da infusão também reduziu a podridão, diferindo do tratamento testemunha (Tabela 1).

Os resultados obtidos nesses experimentos, demonstram o potencial do uso de extratos de canola no controle de podridões em pós-colheita de morangos. Tais resultados, vêm corroborar com trabalhos de outros autores,

utilizando extratos vegetais em diversos patossistemas (FLORES, 2013; FOGOLARI et al., 2010).

Tabela 1 – Incidência de podridão causada por *Botrytis cinerea* em morangos “Camarosa” e dos parâmetros físico-químicos, após serem tratados com extratos de canola obtidos por diferentes formas de extração. UTFPR, Pato Branco – PR, 2011 e 2012.

Ano Tipos de Extratos	2011			2012			
	Incidência de Podridão (%)	Podridão sem sépalas (%)	Podridão com sépalas (%)	Firmeza de polpa (N)	Acidez (meq./100ml)	SST °Brix	Perda Massa (%)
Testemunha (apenas água)	60,00 a *	52,50	65,00 a	1,43 ^{ns}	13,90 a	4,70 ^{ns}	0,70 ^{ns}
Alcoólico	10,00 b	30,00 c	37,50 b	1,46	11,50 bc	4,40	0,40
Aquoso sem reserva	80,00 a	42,00 ab	65,00 a	1,35	10,60 c	4,40	0,60
Infusão	90,00 a	45,00 ab	45,00 b	1,30	12,20 b	4,10	0,90
Maceração	30,00 b	37,50 bc	27,50 b	1,60	10,50 c	4,20	0,40
CV (%)	29,25	34,78	39,71	26,18	8,83	14,50	46,83

*Médias seguidas pela mesma letra, na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Moura et al. (2012), observaram uma redução significativa da antracnose, causada por *Colletotrichum gloeosporioides*, em pós-colheita de maracujá-amarelo, ao utilizarem dois derivados de capim limão (*Cymbopogon citratus*) (óleo essencial a 0,1% e extrato bruto aquoso auto clavado a 10%). Também Bizi (2006) buscou selecionar produtos alternativos (produtos químicos não fungicidas, óleos essenciais, extratos de plantas, leite e derivados e microrganismos), para o controle de oídio e mofo cinzento, causados por *Oidium* sp. e *B. cinerea*, respectivamente, em mudas de eucalipto. O autor verificou que o tanino revelou os menores índices de severidade do mofo cinzento, e para o controle do oídio, os melhores produtos encontrados, foram o leite de vaca e o fungo *Lecanicillium* sp.

Mari et al. (2002), observou um controle satisfatório do mofo azul, causado por *P. expansum*, após exposição de peras, por um período de 24 h a temperatura ambiente com atmosfera enriquecida com isotiocianato de alil, oriundo de farinha desengordurada de *B. juncea*. Esta mesma autora, avaliando cinco diferentes tipos de isotiocianatos sobre podridão parda em pêssego, observaram que o butenil e alil reduziam significativamente a doença, em relação aos outros isotiocianatos benzil, feniletil e metiltiobutil (MARI et al., 2008).

Ainda, Ribeiro et al. (2010), obtiveram bons resultados no tratamento pós-colheita de frutos de abacaxi com extrato de nim, quando comparado aos

extratos de erva-doce e citronela, apresentando menor incidência e severidade da podridão peduncular.

Em outro trabalho, Flores (2013) avaliando vários extratos vegetais, em suas diferentes formas de extração: aquosa, alcoólica, maceração e infusão, com intuito de controlar a podridão parda, causada por *Monilinia fruticola*, em pós-colheita de pêsego, evidenciou que todos os tratamentos que foram submetidos ao controle com extrato de canola apresentaram lesões significativamente menores, quando comparados a suas respectivas testemunhas. O extrato de canola obtido por infusão se destacou em relação aos demais, com um melhor controle de podridões nos frutos.

Os testes em pós-colheita do presente estudo apresentaram diferenças significativas de controle entre os extratos obtidos por diferentes modos de extração, diferentemente dos testes *in vitro*. Tal comportamento pode ser explicado pelo fato dos extratos terem contato direto com os pseudofrutos, o que não aconteceu nos experimentos *in vitro*. O contato direto com os pseudofrutos pode ter formado uma barreira que dificultou a penetração dos conídios do fungo nos tecidos do hospedeiro, e conseqüentemente, retardou o processo infeccioso nos morangos. Além disso, pressupõe-se que possam existir quantidades diferenciadas de isotiocianatos, presentes nos extratos, em função da forma de extração. Também diferente dos testes *in vitro*, quando se aplicou os extratos *in vivo*, pode ter ocorrido a ativação de proteínas relacionadas à patogenicidade (PRPs), e conseqüentemente, reduzido a podridão dos pseudofrutos (Tabela 1).

Os extratos de canola obtidos por extração alcoólica e maceração são indicados como alternativa de controle da doença em estudo, já que apresentaram resultados significativos nos três experimentos. Para o experimento de 2011, os extratos apresentaram controle de 83,3% e 50% respectivamente. Já para os experimentos de 2012, apresentaram um controle de 42,8% e 29,5%, nas condições em que se retiraram as sépalas dos morangos. Possivelmente os teores de glucosinolatos das plantas de canola utilizadas nos experimentos de 2011 e 2012, eram diferentes, já que as plantas não foram submetidas às mesmas condições ambientais durante o seu desenvolvimento, tendo em vista que as plantas utilizadas no ano de 2011, era da região do sudoeste do Paraná, enquanto as do ano de 2012 eram provenientes do Rio Grande do Sul. Tendo em vista que a região do Rio Grande do Sul possui temperaturas médias mais baixas em relação ao sudoeste do

Paraná, possivelmente propiciam uma maior concentração de metabólitos secundários, neste caso, os glucosinolatos.

O extrato obtido por maceração, no ano de 2012, no experimento em que os morangos permaneceram com as sépalas, controlou em 57,7% a podridão. Um controle de 28,2% maior em relação ao experimento em que se retiraram as sépalas dos morangos. Possivelmente no processo de retirada das sépalas, ocorrem fermentos que facilitam a entrada do patógeno aumentando as podridões. Também a hipótese de que o inóculo presente nas sépalas favorece uma maior incidência de podridões, não foi observado neste trabalho.

A facilidade de obtenção e o custo do extrato obtido por maceração é economicamente mais viável para os produtores em relação ao extrato alcoólico, já que para a obtenção deste, seria necessária a aquisição de rota evaporadores e álcool de cereais, que apresentam custos elevados.

Dos três experimentos montados, o extrato obtido por infusão apresentou controle apenas em um dos experimentos, e com um potencial baixo de controle (25%), não sendo indicado como alternativa de controle do mofo cinzento em pós-colheita de morangos.

Outro fator que deve ser salientado neste estudo, é que as condições laboratoriais durante a condução dos experimentos foram ideais para o desenvolvimento da doença, com temperatura e umidade adequadas, além da alta concentração de inóculo do fungo utilizada para a inoculação dos morangos e mesmo assim, os dois tipos de extratos (alcoólico e maceração), controlaram eficientemente o mofo cinzento em pós-colheita de morangos. Com isso espera-se que esses extratos aquosos quando aplicados em condições de campo apresentem um maior controle da doença do que os obtidos nestes estudos, uma vez que as condições a campo nem sempre são vantajosas ao desenvolvimento do patógeno, e a quantidade de inóculo pode ser menor. Conclui-se portanto, que estas duas formas de extração são eficientes no controle da doença.

Em relação aos parâmetros físico-químicos realizados nesse trabalho, em 2012, observou-se que os extratos de canola não apresentaram diferença estatística em relação aos extratos sobre os parâmetros de firmeza de polpa, sólidos solúveis totais e perda de massa (Tabela 1). O fato dos tratamentos não terem alterado a firmeza de polpa, demonstra que os extratos não apresentam ação direta sobre a degradação das paredes celulares e a turgidez dos tecidos. A firmeza de

polpa é uma variável muito importante em frutos, durante a maturação ocorre um incremento de enzimas, principalmente a poligalacturonase, a pectinase e a celulase, degradando os principais constituintes da parede celular, como a transformação de protopectinas em pectinas solúveis (MAZARO et al., 2008).

No entanto, ao analisar os diferentes modos de extração do extrato de canola, observou-se que todos os extratos reduziram o teor de acidez titulável, quando comparado ao tratamento testemunha (Tabela 1). Possivelmente tal fato ocorreu porque os extratos de canola interferiram no metabolismo primário dos frutos, desencadeando uma maior degradação dos ácidos orgânicos. O teor de acidez é um fator importante para determinar o sabor e aroma de um alimento. Em morangos, ácidos orgânicos como cítrico e málico, servem de substrato nos processos respiratórios pelo ciclo de Krebs, o que reduz a acidez dos pseudofrutos durante a maturação (MAZARO, 2007).

Quanto aos SSTs, novamente observou-se que os valores não diferiram estatisticamente em relação ao tratamento testemunha, no entanto os valores mantiveram-se dentro da normalidade. Sólidos solúveis, expressos em °Brix (VIRMOND E RESENDE, 2006), são substâncias dissolvidas por um solvente, sendo que quando se trata de alimentos esse solvente é a água, formados principalmente por açúcares, cuja maturação dos frutos tendencia o aumento dos mesmos (CHITARRA e CHITARRA, 2006), devido à degradação ou biossíntese de polissacarídeos (MANGNABOSCO et al., 2008).

5.3 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS

Nos resultados obtidos em 2011, não houve diferença nos parâmetros proteínas, FAL, antocianinas e flavonoides, quando comparados ao tratamento testemunha (Tabela 2). Já, as peroxidases foram ativadas pelo extrato de canola obtido por infusão, no entanto, este extrato não diferiu do extrato obtido por maceração e aquoso sem tempo de reserva.

Nos dados obtidos no ano de 2012, não se observou diferenças estatísticas para nenhum dos parâmetros bioquímicos avaliados, ou seja, de proteínas, peroxidase, antocianinas, flavonoides e atividade da FAL (Tabela 3).

Tabela 2- Parâmetros bioquímicos de proteínas (mg./g.tecido), peroxidases (unidade enzimática.minuto⁻¹), FAL (UAbs min mg proteína⁻¹), antocianinas mg.100 g⁻¹) e flavonoides (mg.100 g⁻¹) de morangos “Camarosa”, tratados com diferentes extratos de canola. UTFPR, Pato Branco – PR, 2011.

Tipos de Extrato	Proteínas	Peroxidases	FAL	Antocianinas	Flavonoides
Testemunha (apenas água)	1,84 ^{ns}	6,73 b *	0,013 ^{ns}	88,84 ^{ns}	79,34 ^{ns}
Alcoólico	2,13	6,91 b	0.010	128,05	103,13
Aquoso sem reserva	2,05	8,11 ab	0.009	91,54	93,33
Infusão	2,27	11,16 a	0.010	137,06	120,58
Maceração	1,92	7,66 ab	0.009	118,89	115,16
CV (%)	19,75	22,00	40,92	27,32	22,93

*Médias seguidas da mesma letra na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

As peroxidases que pertencem a um grupo de glicoproteínas, não possuem ação direta na Resistência Sistêmica Adquirida (RSA). No entanto, sua alteração indica alteração no metabolismo da planta, pois atua na catalização da produção de lignina, destruição peroxidativa de reguladores de crescimento, além de atuarem sobre as espécies ativas aos oxigênios (EAOs), livrando a célula de seu efeito deletério (LABANCA, 2002). Além disso, incorporam glicoproteínas à parede celular, catalizam a formação de lignina, as quais podem formar barreiras mecânicas ao crescimento do patógeno, desta forma ocorre maior resistência a parede celular contra a ação de enzimas hidrolíticas, dificultando ao patógeno a utilização dos nutrientes do hospedeiro (PASCHOLATI & LEITE, 1994).

Tais resultados estão de acordo com trabalho desenvolvido por Mangnabosco (2010), em que o autor demonstrou a ação da calda bordalesa sobre a atividade das peroxidases em cultivo orgânico de morangos. Este produto alterou a atividade da enzima, sendo que com o aumento das concentrações desse, ocorreu aumento de sua atividade. A aplicação dos indutores de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) e extrato aquoso de lobeira (VLA), contra a vassoura-de-bruxa (*Moniliophthora perniciosa*) do cacauero (*Theobroma cacao* L.), também induziram maior atividade de peroxidase, quitinase e β -1,3-glucanase em mudas de cacaueros, comparados às respectivas testemunhas, no período de 4 a 18 dias após a pulverização (RESENDE et al., 2007).

Em outro estudo, em cultivo de alface, a aplicação de extrato aquoso bruto de gengibre (*Zingiber officinalis*), na base das plantas, também aumentou a

atividade de peroxidase e reduziu a incidência de mofo branco, causado por *Sclerotinia sclerotiorum* (RODRIGUES et al., 2007). Resultados similares novamente foram obtidos por Viecelli et al. (2010), ao tratarem plantas de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) com o extrato de micélio de *Pycnoporus sanguineus*, no controle da mancha angular causada por *Pseudocercospora griseola*.

Já, Piva (2013) trabalhando na cultura de pepino, com extratos aquosos e alcoólico de canola em diferentes concentrações (0, 3, 6, 9 e 12%) e em tempos de coleta (0, 1, 2 e 3) em folhas de pepino, obteve resultados com ativação da atividade da FAL.

Possivelmente os extratos de canola obtidos por diferentes modos de extração, quando aplicados em pós-colheita de morangos, não ativam a atividade da FAL, pois provavelmente, a forma de defesa vegetal não tenha sido pela ativação da rota dos fenilpropanóides, o que conseqüentemente também não alterou compostos fenólicos como as antocianinas e flavonoides.

Tabela 3 - Parâmetros bioquímicos de proteínas (mg./g.tecido), peroxidases (unidade enzimática.minuto⁻¹), FAL (UAbs min mg proteína⁻¹), antocianinas (mg.100 g⁻¹) e flavonoides (mg.100 g⁻¹), de morangos "Camarosa", tratados com diferentes extratos de canola. UTFPR, Pato Branco – PR, 2012.

Tipos de Extratos	Proteínas	Peroxidases	FAL	Antocianinas	Flavonoides
Testemunha	1,28 ^{ns}	1,20 ^{ns}	0,003 ^{ns}	7,13 ^{ns}	1,37 ^{ns}
Alcoólico	1,18	1,13	0,0036	5,94	1,26
Aquoso sem reserva	1,09	0,85	0,0036	7,33	1,53
Infusão	1,35	1,09	0,0018	8,44	1,73
Maceração	1,48	1,20	0,0016	5,84	1,21
CV (%)	33,85	39,55	53,30	21,67	20,28

*Médias seguidas da mesma letra na vertical, não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade de erro.

A alteração na atividade da FAL, das antocianinas e flavonoides é um indicativo que os extratos de canola atuam sobre o metabolismo secundário, e, conseqüentemente, envolvidos nos mecanismo de defesa e reprodução vegetal (BOBBIO e BOBBIO, 1995; LOPES et al., 2007). Os flavonoides podem estar associados na regulação do transporte do hormônio auxina, essencial para o desenvolvimento dos vegetais (BROWN et al., 2001; FRIML, 2003), podendo atuar

ainda como toxinas, ou proteger as plantas contra a herbivoria, dificultando a digestão aos insetos (BROUILLARD et al., 1998).

As antocianinas são compostos da família dos flavonoides, sendo um dos principais grupos de pigmento vegetais (MARKAKIS, 1982; HARBORNE & GRAYER, 1988; BRIDLE & TIMBERLAKE, 1997). Elas conferem diferentes tonalidades aos órgãos vegetais como frutos, flores e folhas, que variam entre vermelho, laranja e roxo (BROUILLARD, 1983). Os quatro maiores grupos de flavonoides são as flavonas, as flavononas, as catequinas e as antocianinas (NIJVELDT, 2001).

Resultados diferentes aos encontrados nesse trabalho foram evidenciados por Fogolari et al. (2010), que trabalhou com extratos de calêndula aplicados em pós-colheita de morangos para controle de *B. cinerea*. Os extratos estimularam a produção de flavonoides, bem como a atividade da enzima FAL. Isto demonstra que possivelmente ocorreu a ativação da rota dos fenilpropanoides, no processo de defesa vegetal.

Quando se realizou a avaliação da atividade enzimática, FAL, a cada 12 h, até 48 h, observou-se alteração da atividade desta enzima, fato normal no metabolismo vegetal, no entanto seu comportamento não diferiu do tratamento testemunha (Figura 4).

Já, para a atividade da enzima peroxidase, esta foi ativada 12 h após a aplicação dos indutores (extratos), com destaque para o extrato obtido pela extração alcoólica, diferindo do tratamento testemunha. Ocorreu estabilização da atividade da enzima peroxidase, em todos os tratamentos, 36 h após a aplicação destes. Em 48 h ocorreu um acréscimo da atividade desta enzima, fato esse que pode ser explicado pelos pseudofrutos estarem entrando em senescência ou até mesmo por já estar iniciando o ataque de patógenos causadores de podridões (Figura 5).

Mudas de café tratadas com óleo essencial de tomilho, ASM e extrato de casca de café, apresentaram picos de atividade da peroxidase aos 2 e 11, 7 e 11 e, 2 e 9 dias após a aplicação dos tratamentos (PEREIRA et al., 2008). Também em tomateiros, o acúmulo de Proteínas-RP, ocorreu entre três e cinco dias após a indução por *Pseudomonas fluorescens* e *Fusarium oxysporum*, o que indica ter havido reação de defesa da planta (RAMAMOORTHY et al., 2002). Já, em plantas de tomateiro pulverizadas com ASM, mostraram aumento significativo na atividade

de quitinases em folhas, logo à primeira hora após a pulverização, em relação a plantas pulverizadas com água e sem inoculação (CAVALCANTI et al., 2006).

Esse comportamento diferenciado entre as espécies, é previsível, pois, o metabolismo é diferenciado entre as plantas e indutores utilizados. Nesse sentido, esse trabalho permitiu observar que os morangos, quando induzidos por extratos de canola, ativam rotas metabólicas para defesa vegetal. Neste trabalho, evidenciou-se que a rota preferencial de defesa está ligada a ativação das peroxidases, bem como não observou-se ativação da rota dos fenilpropanoides, o que vem sendo evidenciado em muitos trabalhos quando aplica-se extratos vegetais.

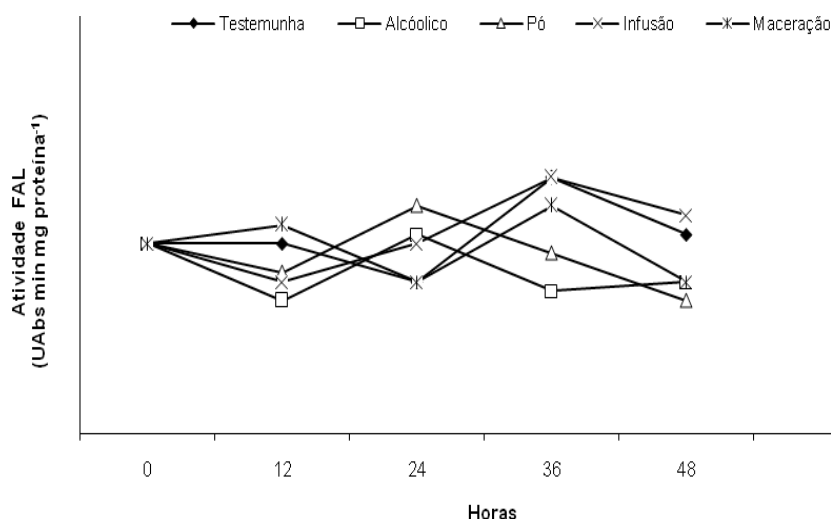


Figura 4 - Atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) com 12, 24, 36 e 48 h após a aplicação dos extratos de canola, obtidos por diferentes modos de extração, na concentração de 16%, em pós-colheita de morangos. UTFPR, Dois Vizinhos– PR, 2012.

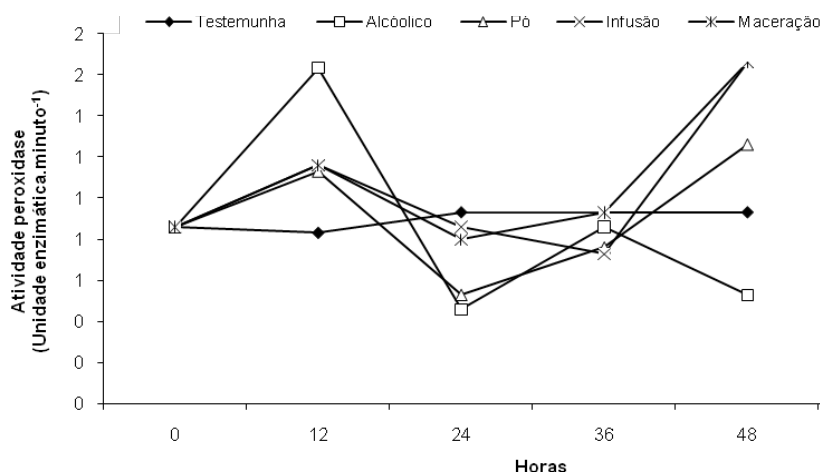


Figura 5 - Atividade de peroxidases com 12, 24, 36 e 48 h após a aplicação dos extratos de canola, obtidos por diferentes modos de extração, avaliadas até 48 h após a implantação do experimento. UTFPR, Dois Vizinhos– PR, 2012.

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos e nas condições que este trabalho foi desenvolvido, pode-se concluir que:

Os extratos de canola obtidos por extração alcoólica, infusão, maceração e sem tempo de reserva, reduzem o crescimento micelial e a germinação dos conídios de *B. cinerea*, sendo diretamente proporcional, as doses pré-estabelecidas neste estudo.

Os extratos alcoólicos, maceração e infusão reduzem a podridão causada por *B. cinerea* em pós-colheita de morangos.

Os extratos atuaram na alteração do teor de acidez dos frutos, e no comportamento das peroxidases. Não apresentaram efeito sobre os sólidos solúveis totais (SST), firmeza de polpa, perda de massa, antocianinas, flavonoides e atividade da FAL.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar dos resultados obtidos neste trabalho terem sido significativos para o controle do patógeno e da doença, novas pesquisas devem ser realizadas a fim de determinar melhores doses e épocas de aplicação dos extratos de canola, e melhor entendimento do seu modo de ação, já que as pesquisas voltadas ao uso de canola no controle de fitopatógenos ainda são pouco exploradas.

Devem ser realizados novos trabalhos, visando a aplicação de extratos de canola na pré-colheita, e a avaliação da composição cromatográfica dos mesmos, já que é sabido que existem vários compostos com ação biocida entre os representantes das Brássicas, e cada um pode agir de uma forma diferente dependendo, além disso, do tipo de fitopatógeno em teste.

Sugere-se, a realização de outros experimentos, testando outras concentrações de extratos de canola, bem como o emprego de outras espécies de Brássicas.

Sugere-se ainda, fazer testes residuais e degustativos para avaliar se os pseudofrutos após terem sido tratados com os extratos de canola, permanecem com algum resíduo que prejudique o consumo seguro.

REFERÊNCIAS

AGRIANUAL: **Anuário da Agricultura Brasileira**, MORANGO: Balanço mundial, São Paulo, p. 419, 2008.

ALFENAS, A. C.; ZAUZA, E. A. V.; MAFIA, R. G.; ASSIS, T. F. de. **Clonagem e Doenças do Eucalipto**. Viçosa: UFV, p. 442. 2004.

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**, v.35, n.3, p.196 - 201, 2009.

ANTUNES, L. E. C., REISSER JÚNIOR, C. Produção de morangos. **Jornal da Fruta**, Lages, v. 15, n. 191, p. 22 - 24, 2007.

ANVISA - **Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA)**. Relatório de atividades de 2009. Brasília, 2010.

BAUTISTA-BAÑOS,S.;GARCÍA-DOMINGUEZ,E.;BARRERA-NECHA,L.L.; REYESCHILPA, R.; WILSON C.L. Seasonal evaluation of postharvest fungicidal activity of powders 26 and extracts of huamuchil (*Pithecellobium dulce*): action against *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum* and *Rhizopus stolonifer* of strawberry fruit. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.29, p.81 - 93, 2003.

BEN-SHALON, N.; ARDI, R.; PINTO, R.; AKI, C.; FALLIK, E. Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. **Crop Protection**, v.22, p.285 - 290, 2003.

BERNARDI, R. Isolation and biochemical characterization os 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.

BETTIOL, W.; MORANDI, M. A. B. **Biocontrole de Doenças de Plantas: Uso e Perspectivas**. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna, SP, 2009, 341p.

BIZI, R. M. **Alternativas de controle do mofo cinzento e do oídio em mudas de eucalipto**. 2006. 67f. Dissertação (Mestrado) – Pós - Graduação em Engenharia Florestal, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

BLOK, W. J.; LAMERS, J. G.; TERMORSHUIZEN A. J.; BOLLEN, G. J. Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. **Phytopathology**, v. 90, p. 253 - 259, 2000.

BONALDO, S. M.; PASCHOLATI, S. F.; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência: noções básicas e perspectivas. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds.). Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos. Piracicaba: FEALQ, p.11 - 28, 2005.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Introdução à química de alimentos**. 2.ed. São Paulo: Varela, 1995. 223 p.

BRACKMANN, A.; HUNSCHE, M.; BALEM, T. A. Efeito de filmes de PVC esticável e polietileno no acúmulo de CO₂ e na manutenção da qualidade pós-colheita de morangos cv.Tangi. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.5, n.2, p.89 - 92, 1999.

BRACKMANN, A.; HUNSCHE, M.; WACLAWOVSKI, A. J.; DONAZZOLO, J. Armazenamento de morangos cv. Oso Grande (*Fragaria ananassa* L.) sob elevadas pressões parciais de CO₂. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.7, n.1, p.10-14, 2001.

BRADFORD, M. M.; A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.72, p.248 - 254, 1976.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C.F. Anthocyanins as natural food colours – selected aspects. **Food Chemistry**, v.58, n.1-2, p.103 - 109, 1997.

BROUILLARD, R.; BRIGNOLAS, F. et al. Phenolic predictors for Norway spruce resistance to the bark beetle *Ips typographus* (Coleoptera: Scolytidae) and an associated fungus, *Ceratocystis polonica*. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 28, n. 5, p. 720 - 728, 1998.

BROUILLARD, R. The *in vivo* expression of anthocyanins colour in plants. **Phytochemistry**, v.22, p.311 - 323, 1983.

BROWN, D. E. et al. Flavonoids act as negative regulators of auxin transport *in vivo* in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v. 126, n. 2, p. 524 - 535, 2001.

CAMARGO, L. K. P. **Produtividade e qualidade de cultivares de morangueiro em sistemas orgânico e convencional na região de Guarapuava - PR**. (Dissertação de Mestrado) - Universidade Estadual do Centro Oeste/UNICENTRO, Guarapuava/PR, 2008.

CAMATTI-SARTORI, V.; MAGRINI, F. E.; CRIPPA, L. B.; MARCHETT, C.; VENTURIN, L.; SILVA-RIBEIRO, R. T. Avaliação *in vitro* de extratos vegetais para o controle de fungos patogênicos de flores. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.6, n. 2, p. 117-122, 2011.

CAVALCANTI, L. S.; BRUNELLI, K. R.; STANGARLIN, J. R. Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência induzida. In: CAVALCANTI, L.S.; DI PIERO, R.M.; CIA, P.; PASCHOLATI, S.F.; RESENDE, M.L.V.; ROMEIRO, R.S. (Eds.). Indução de Resistência em Plantas a Patógenos e Insetos. Piracicaba: FEALQ, 2005, p.81-124.

CAVALCANTI, F.R.; RESENDE, M.L.V.; PEREIRA, R.B.; COSTA, J.C.B.; CARVALHO, C.P.S. Atividades de quitinase e beta-1,3-glucanase após eliciação das defesas do tomateiro contra a mancha-bacteriana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.41, n.12, p.1721-1730, 2006.

CARVALHO SERGIO, P. **Informativo Conjuntural. Secretaria de Estado de Agricultura, Pecuária e Abastecimento de Minas Gerais** - Subsecretaria do Agronegócio – EMATER – MG, nº 82, janeiro de 2012.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2. ed. Lavras: Editora UFLA, 2005.783p.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós-colheita de frutas e hortaliças: glossário**. Lavras: UFLA, p.256, 2006.

DAS, S.; TYAGI, A. K.; KAUR, H. Cancer modulation by glucosinolates: a review. **Current Science**, v. 79, p. 1665 - 1671, 2000.

DAT, J. F.; LÓPEZ-DELGADO, H.; FOYER, C. H.; SCOTT, I. M.; Parallel changes in H₂O₂, and catalase during thermotoleran induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. **Plant Physiology**, v.116, p. 1351-1357, 1998.

DOMINGUES, D.M. **Efeito da radiação gama e embalagem na conservação de morangos 'Toyonoka' armazenados sob refrigeração**. 2000. 60p. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos)- Escola Superior de Agricultura Luíz de Queiroz, Piracicaba, 2000.

DUARTE FILHO, J.; ANTUNES, L. E. C.; PÁDUA, J.G. Cultivares, **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.28, n.236, p. 20-23, 2007.

DUKE, N.; RAMIREZ, A. V.; TOMIYAMA, K. Systemic induction of resistance in potato plants against *Phytophthora infestans* by local treatment with hyphal wall components of the fungus. **Journal of Phytopathology**, v.119, p. 232 - 239, 1987.

DURRANT, W.E.; DONG X. Systemic Acquired Resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.42, p.185 - 209, 2004.

ELAD, Y.; VOLPIN, H. Heat treatment for the control of Rose and Carnation grey mould (*Botrytis cinerea*). **Plant Pathology**, v.40, p. 278 - 286, 1991.

EMBRAPA – **Incidência de Doenças de Pós-Colheita em Frutos de Morango Produzidos no Distrito Federal** – Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento - Embrapa Hortaliças. ISSN 1677 - 2229, Agosto, 2008.

EMBRAPA Trigo. **Sistema de Produção: Cultivo de Canola**. ISSN 1809 - 2985, Novembro, 2007.

ERGON, A.; KLEMSDAL, S. S.; TRONSMO, A. M. Interaction between cold hardening and *Microdochium nivale* infection on expression of pathogenesis-related genes in winter wheat. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, v.53, p. 301-310, 1998.

FARETRA, F.; POLLASTRO, S.; DITONNO, A.P. New natural variants of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) coupling benzimidazole – resistance to intensivity toward the N-phenylcarbamate dietofencarb. *Phytopathologia Mediterranea*, v.28, p.98 - 104, 1989.

FERNANDES-JÚNIOR, F; FURLANI, P. R; RIBEIRO, I. J. A; CARVALHO, C. R. L. 2002. **Produção de frutos e estolhos do morangueiro em diferentes sistemas de cultivo em ambiente protegido**. *Bragantia*, 61: p. 25 - 34, 2002.

FLORES, M. F. **Extratos vegetais no controle de podridão parda (*Monilinia fructicola*) em pêssego**. 2013. 60f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Pato Branco, 2013.

FOGOLARI, Hoilson. **Potencial de Extratos à Base de *Calendula officinalis* L. Na Indução de Resistência e no Efeito Fungistáticos sobre *Botrytis cinerea*, *in vitro***. 2010. 55f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pos-Graduação em Agronomia Universidade Federal do Parana – UFPR, Pato Branco, 2010.

FREIRE, M. F. I.; MATTHEW, J. MORRA.; GUY, R. KNUDSEN. Atividade antifúngica de substâncias voláteis presentes em *Brassica napus* sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum*. *Revista Brasileira Farm.*, v. 84, n. 3, p. 97 - 99, 2003.

FRIML, J. Auxin transport - Shaping the plant. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 6, n. 1, p. 7 - 12, 2003.

GIARDI, C.L.; SANHUEZA, R.M.V.; BENDER,R.J. **Manejo póscolheita e rastreabilidade na produção integrada de maçãs**. Circular técnica 31, Bento Gonçalves, 2002.

GIMSING, A. L.; SORENSEN, J. C.; TOVGAARD, L.; JORGENSEN, A. M. F.; HANSEN, H. C. B. Degradation kinetics of glucosinolates in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, v. 25, p. 2038 - 2044, 2006.

GOUVEA, Alfredo. **Controle em campo e pós-colheita de doenças e metabolismo do morangueiro após tratamento com *Saccharomyces cerevisiae***. 2007. 85f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia Universidade Federal do Paraná – UFPR, Curitiba, 2007.

GOUVEA, A; KUHN, O. J.; MAZARO, S. M.; MIO, L. L. M.; DESCHAMPS, C; BIASI, L. A.; FONSECA, V. C. 2009. Controle de doenças foliares e de flores e qualidade pós-colheita do morangueiro tratado com *Saccharomyces cerevisiae*. **Horticultura Brasileira**, n. 27: p. 527-533, 2009.

GUGINSKI, C. A.; SANTOS, I.dos.; OLIVEIRA, M. C.; PAZOLINI, K.; HECK, D. W. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a extrato de canola (*Brassic napus* L.). **In: Anais 44º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Bento Gonçalves, RS. 2011.

GULLINO, M. L. Chemical control of *Botrytis* spp. **In: VERHOEFF, K.; MALATHRAKIS, N. E.; WILLIAMSON, E.B. Recent advances in Botrytis research**. Wageningen: PUDOC, 1992. P.217-222.

HARBORNE, J. B.; GRAYER, R. J. The anthocyanins. **In: The flavonoids: advances in research since 1980**. Chapman & Hall, London, p. 1-20, 1988.

HEIL, M.; BOSTOCK, M.R. Induced Systemic Resistance (ISR) Against Pathogens in the Context of Induced Plant Defences. **Annals of Botany Company**.2002.

HELBIG, J. Biological Control of *Botrytis cinerea* Pers. ex Fr. in Strawberry by *Paenibacillus polymyxa* (Isolate 18191). **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.149, n.5, p.265-273, 2001.

HYODO, H.; KURODA, H.; YANG, S. F. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting caused by ethylene. **Plant Physiology**, Washington, v. 62, n.1, p.31-35, July. 1978

JAMAL, C. M. et al. O uso de extratos vegetais no controle alternativo da podridão pós-colheita da banana. **Anais do IX Simpósio Nacional do Cerrado e II Simpósio Internacional de Savanas Tropicais – 12 a 17 de outubro de 2008 – Paria Mundi**, Brasília,DF, 2008.

JARVIS, W. R. Managing diseases in greenhouse crops. **Plant Disease**, v.73, p.190-194, 1989.

KAMOEN, O. Phytopathological role of secretions from *Botrytis cinerea* (1989). **In: VERHOEFF, K.; MALATHRANKIS, N. E.; WILLIAMSON, B. Recent advances in Botrytis research**. Pudoc: Wageningen, 1992.p.18-21.

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.

LABANCA, E. R. G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*)**. Piracicaba, 2002. 107p. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura. "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, SP, 2002.

LAGE, DANIEL, A. da C. **Fumigação de solo com óleo essencial de mostarda para o controle da murcha de Fusário em tomateiro**. 2009. 557f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa. Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, Viçosa – MG. 2009.

LARA, I.; Garcia, P.; Vendrell, M. Modifications in cell wall composition after cold storage of calcium – treated strawberry (*fragaria x ananassa* Duch) fruit. **Postharvest biology and Technology**, v.34, p.331 – 339, 2004.

LATUNDE-DADA, A.O.; LUCAS, J. A. The plant defence activator acibenzolar-S-methyl primes cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] seedlings for rapid induction of resistance. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v. 58, p. 199 - 208, 2001.

LEE H.I.; LEON J.; RASKIN I. Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. **Proceedings of National Academy of Sciences of the USA**, v. 92, p. 4076 - 4079, 1995.

LOPES, T. J.; XAVIER, M. F.; QUADRI, M. G.; QUADRI, M. B. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v.13, n. 3, p. 291 - 297, jul-set, 2007.

LYDAKIS, D.; AKED, J. Vapour heat treatment of Sultanina table grapes. In: Control of *Botrytis cinerea*. **Postharvest Biology and Technology**, v. 27, p. 109 - 116, 2003.

MILANESI, P. M.; BLUME, E.; MUNIZ, M. F. B; BRAND, S. C.; JUNGUES, E.; MANZONI, C. G; WEBER, M. N. D. Ação fungitóxica de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*. **Revista da FZVA**.Uruguaiana, v.16, n.1, p. 01 - 13, 2009.

MAAS, J. L. **Compendium of strawberry diseases**. 2 ed. St. Paul: APS Press, 98p., 1998.

MANGNABOSCO, Marindia. C. **Avaliação da eficiência da calda bordalesa, calda sulfocálcica e do biofertilizante supermagro no cultivo orgânico de**

morangueiro. 2010. 92f. Dissertação (Mestrado) – Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Pato Branco, 2010.

MANGNABOSCO, M. C. et al. Avaliação das características químicas de seis cultivares de morangueiro na região Sudoeste do Paraná. **Horticultura Brasileira**, Maringá, v. 26, n. 2, p. 5456 - 5461, 2008.

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.; PALMERI, S. Control of brown rot on stonefruit by synthetic and glucosinolate-derived isothiocyanates. **Postharvest biology and technology**. Londres, v. 47, p. 61 - 67, 2008.

MARKAKIS, P. **Stability of Anthocyanins in foods**. In: Markakis P (Ed) *Anthocyanins in color foods*. New York, Academic Press. p. 163-180, 1982.

MARTINS, E. M. F.; De MARIA, A. C.; STOCKER, G. G.; MORAES, W. B. C. Changes in the resistance of detached coffee leaves by yeast extracts filtrate and heat-treatment. **Fitopatologia Brasileira**, v. 11, p. 899 - 909, 1986.

MATSUNO, H.; URITANI, I. Physiological behavior of peroxidase isozymes in sweet potato root tissue injured by cutting or with black rot. **Plant & Cell Physiology**, Tokyo, v. 23, p. 1091 - 1101, 1972.

MAZARO, S. M. **Indução de resistência à doenças em morangueiro pelo uso de elicitores**. Tese (Doutorado) apresentada ao Programa de Pós-graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal. Curitiba, 2007.

MAZARO, S. M.; DESCHAMPS, C.; DE MIO, L. L. M.; BIASI, L. A.; DE GOUVEA, A.; SAUTTER, C. K. Comportamento pós-colheita de frutos de morangueiro após a aplicação pré-colheita de quitosana e acibenzolar-smetil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 30, n. 1, p. 185 - 190, Março 2008.

MAZARO, Sérgio M. et al. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de Pitangueira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, p.1824 - 1829, out, 2008 a.

MAZARO, S. M.; CITADIN, I.; DE GOUVÊA, A.; LUCKMANN, D.; GUIMARÃES, S. S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 7, out, 2008.

MEINERZ, C. C.; FORMIGHIERI, A. P.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; DIETERICH, C.; FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R. Atividade elicitora de fitoalexinas em sorgo e soja por derivados de avenca (*Adiantum capillus-veneris* L.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 10, n. 2, p. 26 - 31, 2008.

MITHEN, R.F. Glucosinolates and their degradation products. **Advances in Botanical Research**, v. 35, p. 213 - 262, 2001.

MOCCELLIN, Renata. **Espécies de brássicas no controle de fitopatógenos habitantes do solo**. 2011. 63 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, 2011.

MORAES, J. C.; CARVALHO, S. P. Indução de resistência em plantas de sorgo *Sorghum bicolor* (L.) Moench. Ao pulgão verde *Schizaphis graminum* (Rond.,1852) (Hemiptera:Aphididae) com aplicação de silício. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras. v.26, n.6, p. 1185 -1 189, nov./dez., 2002.

MORANDI, M. A. B.; MAFFIA, L. A. **Manejo integrado do mofo cinzento, causado por *Botrytis cinerea***. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, p. 37, 2005.

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

MOURA, G. S.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; ALVES, A. P. F.; FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R. Controle da antracnose em maracujá-amarelo por derivados de capim-limão (*Cymbopogon citratus*). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.3, p.371-379, jul./set., 2012.

NETO, A. C. da ROCHA. **Efeito de ácidos fenólicos e sais inorgânicos no controle do bolor azul (*Penicillium expansum*) e mofo cinzento (*Botrytis cinerea*) em frutos de maçã**. 2011. 43f. Monografia apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Agrônomo, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2011.

NIJVELDT, R. J.; VAN. N. E.; VAN, H. DE.; BOELEN, P. G.; VAN, N. K.; VAN LEEUWEN, P. A. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, n. 4, p. 418 - 425, 2001.

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

OLIVEIRA, R. P; SCIVITTARO, W. B. Produção de frutos de morango em função de diferentes períodos de vernalização das mudas. **Horticultura Brasileira**, v. 27, p. 91 - 95, 2009.

PASCHOLATI, S. F.; LEITE, B. Mecanismos bioquímicos de resistência às doenças. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v. 2, p.1 - 51, 1994.

PEDROSO, Daniele C.; JUNGES, E.; MENEZES, V.; MULLER, J.; GIRARDI, L. B.; TUNES, L. M.; MUNIZ, M. F. B.; DILL, A.; Crescimento Micelial de *Alternaria solani*

na Presença de Extratos Vegetais. **Revista Brasileira de Agroecologia**. Vol. 4 No. 2. Novembro, 2009.

PEREIRA, R. B.; ALVES, E.; RIBEIRO JUNIOR, P. M.; DE RESENDE, M. L. V.; LUCAS, G. C. e FERREIRA, J. B. F. Extrato de casca de café, óleo essencial de tomilho e acibenzolar-S-metil no manejo da cercosporiose-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 43, n. 10, p. 1287 - 1296, out. 2008.

PIVA, C. A. G. **Extratos de canola e própolis no controle de oídio em pepineiro**. 2013. 92f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia – Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Pato Branco, 2013.

RAMAMOORTHY, V.; RAGUCHANDER, T.; SAMIYAPPAN, R. Induction of defense-related proteins in tomato roots treated with f. sp. *lycopersici*. **Plant and Soil**, v. 239, p. 55 - 68, 2002.

RESENDE, M. L. V., COSTA, J. C. B., CAVALCANTI, F. R.; RIBEIRO JÚNIOR, P. M. e CAMILO, F. R. Seleção de extratos vegetais para indução de resistência e ativação de respostas de defesa em cacaueteiro contra a vassoura-de-bruxa. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 213 – 221, 2007.

REUVENI, M. Resistance to powdery mildew in grapevine induced by *Plasmora viticola*. **Canadian Journal Plant Pathology**, v. 21, p. 272 - 275, 1999.

RIBEIRO, L. F.; BEDENDO, I. P. Efeito inibitório de extratos vegetais sobre *Colletotrichum gloeosporioides* – Agente causal da podridão de frutos de mamoeiro. **Scientia Agricola**, v. 56, n. 4, p. 1267 - 1271, out./dez., 1999.

RIBEIRO, W.S.; DE LUCENA, H. H.; ALMEIDA, E. I. B.; BARBOSA, J. A. Utilização de extratos naturais no controle do fungo peduncular em abacaxi pérola oriundos de Sapé-PB. **Agropecuária Técnica** – v. 31, n. 2, p. 11–16, 2010.

RODRIGUES, A. A. C.; BEZERRA, N, E. e COELHO, R. S. B. indução de resistência a *Fuzarium oxysporum* f. sp. *Tracheiphilum* em caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, p. 492 - 499. 2006.

RODRIGUES, E.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; FIORI-TUTIDA, A. C. G.; STANGARLIN, J. R.; CRUZ, M. E. S. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de gengibre. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 2, p.124 - 128, 2007.

ROMEIRO, R. S. **Indução de Resistência em Plantas a Patógenos**. Viçosa: Editora UFV, 1999. 45p.

SAITO, M. L.; LUCCHINI, F. **Substâncias obtidas de plantas e a procura por praguicidas eficientes e seguros ao meio ambiente**. Jaguariuna: EMBRAPA – CNPMA, 1998. 46p.

SANTOS, G.C; MONTEIRO, M. Sistema Orgânico de Produção de Alimentos. Departamento de Alimentos e Nutrição – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP – 14801-902 – Araraquara – SP – Brasil, **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v.15, n.1, p .73 - 86, 2004.

SHAUL, O.; ELAD, Y.; KIRSHER, B.; VOLPIN, H.; ZIESLIN, N. Control of *Botrytis cinerea* in cut rose flowers by gibberellic acid, ethylene inhibitors and calcium. In: /VERHOEFF, K.; MALATHRANKIS, N.E.; WILLIAMSON, B. Recent advances in **Botrytis research**. Wageningen: Pudoc, p.257-261, 1992.

SILVA, M. B.; ROSA, M. B.; BRASILEIRO, B. G.; SILVA, C. A.; Desenvolvimento de produtos à base de extratos de plantas para o controle de doenças de plantas, **In: Madelaine Venzon**; Trazilbo José de Paula Júnior; Angelo Pallini. (Org.). Controle alternativo de pragas e doenças. 1 ed. Viçosa: EPAMIG, 2006.

SILVA, F. De A.S.; AZEVEDO, C. A. V. Versão do programa computacional Assistat para o sistema operacional Windows. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 4, p. 71 - 78, 2002.

SOUZA, L. S. de A.; BENTES J. L. da S.; FERREIRA J. F. Da.; MIRANDA, M. C. Doses de extratos de *Arrabidaea bilabiata* no controle de fungos fitopatogênicos. **XXVII Congresso Brasileiro da Ciência das Plantas Daninhas. Centro de Convenções** - Ribeirão Preto – SP, 19 a 23 de julho de 2010 .

STICHER, L.; MAUCH, M, B.; METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, Gainesville, v. 35, p. 235 - 270, 1997.

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.

SWINBURNE, T. R.; BARR, J. G.; BROWN, A. E. Production of antibiotics of *Bacillus subtilis* and their effect on fungal colonists of apple leaf scars. **Transactions of the British Mycological Society**, v. 65. p. 211 - 217, 1975.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 722.

TANAKA, M.; PASSOS, F. A; BETTI, J. A. Resistência de *Colletotrichum fragariae* e *C. acutatum* ao benomyl na cultura do morango no Estado de São Paulo. **Scientia Agricola**, v. 54, p. 139 - 146, 1997.

TANAKA, M. A. S.; PASSOS, F. A. Caracterização patogênica de *Colletotrichum acutatum* e *C. fragariae* associados a antracnose do morangueiro. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 5, p. 484 - 488, 2002.

TERRY, L. A.; JOYCE, D.C. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. **Postharvest Biology and Technology**, **Amsterdam**, v. 32, p.1-13, 2004.

TOMM, G. O. Híbridos de canola Hyola empregados na América do Sul. [S. I.]: Advanta: **Pacific Seeds**, [2009]. 1 folder.

VALLAD, G. E.; GOODMAN, R. M. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. **Crop Science**, v. 44, p. 1920 - 1934, 2004.

VAN LOON, L. C.; BAKKER, P. A. H. M.; PIETERSE C. M. J. Systemic resistance induced by *Rhizosphere bacteria*. **Annual Reviews Phytopathology**, Palo Alto, v. 36, p. 453 - 483, 1998.

VASUDEVA, R. S.; CHAKRAVARTHI, B. P. The antibiotic action of *Bacillus subtilis* in relation to certain parasitic fungi, with special reference to *Aternaria solani*. **Annual Applied Biology**, v. 41, p. 612 - 618, 1954.

VENTUROSO, L. R.; BACCHI, L. M. A.; GAVASSONI, W. L.; CONUS, L. A.; PONTIM, B. C. A.; SOUZA, F. R. Inibição do crescimento *in vitro* de fitopatógenos sob diferentes concentrações de extratos de plantas medicinais. **Arquivos Instituto Biológico**, São Paulo, v.78, n.1, p.89-95, jan./mar, 2011.

VIRMOND, M. F. R.; RESENDE, J. T. V. de. Produtividade e Teor de Sólidos Solúveis Totais em Frutos de Morango Sob Diferentes Ambientes de Cultivo, **Revista Eletrônica Lato Sensu**, Ano 1, n. 1, p. 62 - 69, 2006.

ÍNDICE DE APÊNDICES

- APÊNDICE A - Análise de variância para a interação dos fatores: tipo de extratos (fator 1) e concentração dos extratos (fator 2) para o período de avaliação de 96 h após a aplicação dos extratos de canola obtidos por diferentes modos de extração, sobre o crescimento micelial de *Botrytis cinerea*. UTFPR, Câmpus Pato Branco.62
- APÊNDICE B - Análise de variância para o crescimento micelial de *Botrytis cinerea* em função das concentrações de canola no período de avaliação de 96 h após a aplicação dos tratamentos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, PR, 2011.....62
- APÊNDICE C - Análise de variância para a interação dos fatores: tipo de extratos (fator 1) e concentração dos extratos (fator 2) para a avaliação da germinação de conídios de *Botrytis cinerea*, 9 h após implantação do experimento. UTFPR, Câmpus Pato Branco, PR, 2011.....62
- APÊNDICE D - Análise de variância para germinação de conídios de *Botrytis cinerea* em função das concentrações de extratos de canola. UTFPR, Câmpus Pato Branco - PR, 2011.....62

APÊNDICES

APÊNDICE A - Análise de variância para a interação dos fatores: tipo de extratos (fator 1) e concentração dos extratos (fator 2) para o período de avaliação de 96 h após a aplicação dos extratos de canola obtidos por diferentes modos de extração, sobre o crescimento micelial de *Botrytis cinerea*. UTFPR, Câmpus Pato Branco.

F.V.	GL	SQ	QM	F
FATOR 1 (F1)	3	1.91338	0.63779	1.4315 ^{ns}
FATOR 2 (F2)	4	57.93575	14.48394	32.5086 ⁻⁻
Int. F1 X F2	12	7.84725	0.65394	1.4677 ^{ns}
Tratamentos	19	67.69638	3.56297	7.9969 ^{**}
Resíduo	60	26.73250	0.44554	-
TOTAL	79	94.42888	-	-

** significativo ao nível de 1% de probabilidade; ns não significativo ao nível de 5% de probabilidade ($p \geq 0,05$). CV = 10,37%.

APÊNDICE B - Análise de variância para o crescimento micelial de *Botrytis cinerea* em função das concentrações de canola no período de avaliação de 96 h após a aplicação dos tratamentos. UTFPR, Câmpus Pato Branco, PR, 2011.

F. V.	GL	SQ	QM	F
Regr. Linear	1	29.15556	29.15556	65.4385 ^{**}
Regr. Quadr.	1	17.21612	17.21612	38.6409 ^{**}
Regr. Cúbica	1	11.50256	11.50256	25.8170 ^{**}
Regr. 4º Grau	1	0.06151	0.06151	0.1381 ^{ns}
TOTAL	4	57.93575	GL-resíduo=60	-

APÊNDICE C - Análise de variância para a interação dos fatores: tipo de extratos (fator 1) e concentração dos extratos (fator 2) para a avaliação da germinação de conídios de *Botrytis cinerea*, 9 h após implantação do experimento. UTFPR, Câmpus Pato Branco, PR, 2011.

F.V.	GL	SQ	QM	F
FATOR 1 (F1)	2	524.10000	262.05000	0.6999 ^{ns}
FATOR 2 (F2)	4	4858.66667	1214.66667	3.2444 ⁻⁻
Int. F1 X F2	8	5048.73333	631.09167	1.6856 ^{ns}
Tratamentos	14	10431.50000	745.10714	1.9902 [*]
Resíduo	45	16847.75000	374.39444	-
TOTAL	59	27279.25000	-	-

APÊNDICE D - Análise de variância para germinação de conídios de *Botrytis cinerea* em função das concentrações de extratos de canola. UTFPR, Câmpus Pato Branco - PR, 2011.

F. V.	GL	SQ	QM	F
Regr. Linear	1	3785.63333	3785.63333	10.1114 ^{**}
Regr. Quadr.	1	402.38095	402.38095	1.0748 ^{ns}
Regr. Cúbica	1	70.53333	70.53333	0.1884 ^{ns}
Regr. 4º Grau	1	600.11905	600.11905	1.6029 ^{ns}
TOTAL	4	4858.66667	GL-resíduo= 45	-