



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL – UFFS**  
**CAMPUS LARANJEIRAS DO SUL – PR**  
**PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM AGROECOLOGIA E DESENVOLVIMENTO**  
**RURAL SUSTENTÁVEL**

**SILMARA RODRIGUES PIETROBELLI**

**EFICIÊNCIA DE PREPARADOS VEGETAIS NO CONTROLE DE DOENÇAS FÚNGICAS**  
**E NA INDUÇÃO DE MECANISMOS DE DEFESA EM TOMATEIRO**

**LARANJEIRAS DO SUL, PR**

**2019**

**SILMARA RODRIGUES PIETROBELLI**

**EFICIÊNCIA DE PREPARADOS VEGETAIS NO CONTROLE DE DOENÇAS FÚNGICAS  
E NA INDUÇÃO DE MECANISMOS DE DEFESA EM TOMATEIRO**

Dissertação de Mestrado apresentada à Universidade Federal da Fronteira Sul, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Dr. Gilmar Franzener

Coorientadora: Dra. Gabriela Silva Moura

**LARANJEIRAS DO SUL, PR**

**2019**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço à Deus e a Nossa Senhora Aparecida pelo dom da vida. Agradeço também:

Aos meus pais Itelvino Pietrobelli e Francisca Rodrigues, minha irmã Simone Pietrobelli, que são a base e o alicerce da minha existência, que não mediram esforços para garantir a finalização de mais uma etapa da minha formação acadêmica.

Ao meu orientador Gilmar Franzener e coorientadora Gabriela Silva Moura pela orientação e disponibilidade durante o período.

A todos que de alguma forma colaboraram no decorrer dos experimentos e de todo curso do Mestrado.

**Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS**

Pietrobelli, Silmara Rodrigues  
Eficiência de Preparados Vegetais no Controle de Doenças Fúngicas e na Indução de Mecanismos de Defesa em Tomateiro / Silmara Rodrigues Pietrobelli. -- 2019.  
81 f.:il.

Orientador: Doutor Gilmar Franzener.  
Co-orientador: Doutora Gabriela Silva Moura.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Programa de Pós-Graduação em Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável-PPGADR, Laranjeiras do Sul, PR , 2019.

1. Tomateiro. 2. Indução de Resistência. 3. Controle de Doenças Fúngicas. 4. Preparados Vegetais. I. Franzener, Gilmar, orient. II. Moura, Gabriela Silva, co-orient. III. Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

SILMARA RODRIGUES PIETROBELLI

EFICIÊNCIA DE PREPARADOS VEGETAIS NO CONTROLE DE DOENÇAS  
FÚNGICAS E NA INDUÇÃO DE MECANISMOS DE DEFESA EM TOMATEIRO

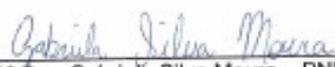
Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação *Stricto Sensu*, da Universidade Federal da Fronteira Sul – UFFS, para obtenção do título de Mestre em Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável.

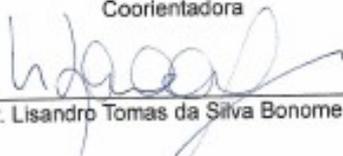
Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:

23/02/2019

BANCA EXAMINADORA

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Gilmar Franzen – UFFS  
Orientador

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dra. Gabriela Silva Moura – PNPd/ UFFS  
Coorientadora

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Lisandro Tomas da Silva Bonome – UFFS

  
\_\_\_\_\_  
Prof.ª Dra. Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada – UEM

## SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT.....	11
1. INTRODUÇÃO.....	11
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 À CULTURA DO TOMATEIRO.....	14
2.1.1 Fitossanidade da cultura do tomateiro.....	15
2.1.2 <i>Alternaria linariae</i> (Neerg.) E. G. Simmons.....	16
2.1.3 <i>Septoria lycopersici</i> Spegazzini.....	18
2.2 PLANTAS BIOATIVA NA AGRICULTURA.....	19
2.3 PLANTAS BIOATIVAS COM POTENCIAL NA SANIDADE VEGETAL.....	21
2.3.1 Canela – Preta ( <i>Octotea catharinensis</i> Mez).....	22
2.3.2 Fumo-Bravo ( <i>Solanum mauritianum</i> Scop.....	22
2.3.3 Erva-Mate ( <i>Ilex paraguariensis</i> st. Hill.).....	22
2.3.4 Eucalipto ( <i>Corymbia citriodora</i> (Hook)).....	23
2.3.5 Limão-Cravo ( <i>Citrus limonia</i> Osbeck).....	23
2.3.6 Língua-de-Vaca ( <i>Rumex obtusifolius</i> (Bitter Dock)).....	23
2.3.7 Mamona ( <i>Ricinus communis</i> L.).....	24
2.3.8 Nêspera ( <i>Eriobotrya japônica</i> (Thunb.) Lindl).....	24
2.3.9 Pinus ( <i>Pinus elliotti</i> Engelm).....	24
2.3.10 Samambaia ( <i>Pteridium arachnoideum</i> (Kaulf.) Maxon).....	25
2.4 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA.....	25
2.4.1 Produção de Fitoalexinas.....	26
2.5 MACERADOS E FERMENTADOS BOTÂNICOS NA SANIDADE VEGETAL.....	28
2.5.1 Obtenção de macerados e fermentados botânicos.....	28
2.5.2 Potenciais benefícios de macerados e fermentados botânicos.....	30
2.5.3 Uso de macerados e fermentados botânicos na sanidade vegetal.....	32
REFERÊNCIAS.....	36
<b>CAPÍTULO I: EFICIÊNCIA DE PREPARADOS DE PLANTAS BIOATIVAS NA INDUÇÃO DE FITOALEXINAS E NO CONTROLE in vitro DE <i>Alternaria linariae</i> e <i>Septoria lycopersici</i> .....</b>	<b>44</b>
RESUMO.....	44
ABSTRACT.....	45
1. INTRODUÇÃO.....	45
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	47
2.1 OBTENÇÃO DAS PLANTAS BIOATIVAS E PREPARADOS VEGETAIS.....	47
2.2 OBTENÇÃO DE <i>Septoria lycopersici</i> e <i>Alternaria linariae</i> .....	48
2.3 AVALIAÇÃO in vitro DO EFEITO ANTIFÚNGICO DOS PREPARADOS VEGETAIS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Alternaria linariae</i> E <i>Septoria lycopersici</i> .....	48
2.4 AVALIAÇÃO in vitro DO EFEITO ANTIFÚNGICO DOS PREPARADOS VEGETAIS SOBRE A GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE <i>Alternaria linariae</i> E <i>Septoria lycopersici</i> .....	49
2.5 AVALIAÇÃO DOS PREPARADOS VEGETAIS SOBRE A INDUÇÃO DE FITOALEXINAS.....	49
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
3.1 AVALIAÇÃO in vitro DO EFEITO ANTIFÚNGICO DOS PREPARADOS VEGETAIS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE <i>Alternaria linariae</i> E <i>Septoria lycopersici</i> .....	51
3.2 AVALIAÇÃO in vitro DO EFEITO ANTIFÚNGICO DOS PREPARADOS VEGETAIS SOBRE A GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE <i>Alternaria linariae</i> e <i>Septoria lycopersici</i> .....	55
3.3 AVALIAÇÃO DOS PREPARADOS VEGETAIS NA INDUÇÃO DE FITOALEXINAS.....	57
CONCLUSÕES.....	60
REFERÊNCIAS.....	60

<b>CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DE PREPARADOS DE <i>Solanum mauritianum</i> Scop E <i>Ilex paraguariensis</i> st Hill NO DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS FÚNGICAS FOLIARES, NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA, NO CRESCIMENTO E NA PRODUÇÃO DA CULTURA DO TOMATEIRO.....</b>	<b>62</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>62</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>63</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>63</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>65</b>
2.1 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE <i>Solanum mauritianum</i> scop E <i>Ilex paraguariensis</i> st. Hill. SOBRE À INDUÇÃO DE MECANISMOS DE DEFESA EM PLANTAS DE TOMATEIRO.....	65
2.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE <i>Solanum mauritianum</i> scop E <i>Ilex paraguariensis</i> st. Hill. SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS FOLIARES NA CULTURA DO TOMATEIRO.....	67
2.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE <i>Solanum mauritianum</i> scop E <i>Ilex paraguariensis</i> st. Hill. SOBRE O CRESCIMENTO E A PRODUÇÃO NA CULTURA DO TOMATEIRO.....	68
<b>3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>69</b>
3.1 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE <i>Solanum mauritianum</i> E <i>Ilex paraguariensis</i> st. Hill. SOBRE Á INDUÇÃO DE MECANISMOS DE DEFESA EM PLANTAS DE TOMATEIRO.....	69
3.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE <i>Solanum mauritianum</i> scop E <i>Ilex paraguariensis</i> st. Hill. SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS FOLIARES NA CULTURA DO TOMATEIRO.....	73
3.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE <i>Solanum mauritianum</i> scop E <i>Ilex paraguariensis</i> st. Hill. SOBRE O CRESCIMENTO E A PRODUÇÃO NA CULTURA DO TOMATEIRO.....	75
<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>78</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>79</b>

## LISTA DE TABELAS E QUADROS

Tabela 1: Espécies vegetais e seus macerados aquosos no controle de fitopatógenos.....	33
Tabela 2: Espécies vegetais e seus fermentados no controle de fitopatógenos.....	33
Quadro 1: Plantas bioativas utilizadas nos experimentos.....	48
Tabela 3: Crescimento Micelial (cm) de <i>Alternaria linariae</i> e <i>Septoria lycopersici</i> após sete dias de incubação em meio de cultura BDA contendo macerado e fermentado de diferentes espécies vegetais.....	52
Tabela 4: Porcentagem de germinação de esporos de <i>Alternaria linariae</i> e <i>Septoria lycopersici</i> após sete dias de incubação em meio de cultura BDA contendo macerado e fermentado de diferentes espécies vegetais.....	55
Tabela 5: Produção de faseolina em hipocótilos de feijoeiro submetidos aos tratamentos com preparados vegetais. Resultados expressos em absorbância de 280nm por grama de massa fresca.....	57
Tabela 6: Produção de gliceolina em mesocótilos de sorgo submetidos aos tratamentos com preparados vegetais. Resultados expressos em absorbância a 480 nm por grama de massa fresca.....	58
Tabela 7: Produção de gliceolina em cotilédones de soja submetidos aos tratamentos com preparados vegetais. Resultados expressos absorbância a 285 nm por grama de massa fresca.....	59
Tabela 8: Altura de plantas de tomateiro (cm) no estágio de florescimento, após 5 aplicações de fermentado e macerado (10%) de <i>Solanum mauritianum</i> e <i>Ilex paraguariensis</i> , em condição de cultivo em casa de vegetação e a campo.....	75
Tabela 9: Número de frutos por planta, peso (g) e diâmetro (cm) de frutos de tomateiros, após 5 aplicações de fermentado e macerado (10%) de <i>Solanum mauritianum</i> e <i>Ilex paraguariensis</i> sob, cultivo a campo, por ocasião do ponto de colheita.....	77
Tabela 10: Número de frutos por planta, peso (g) e diâmetro (cm) de frutos de tomateiros, após 5 aplicações de fermentado e macerado (10%) de <i>Solanum mauritianum</i> e <i>Ilex paraguariensis</i> sob, cultivo em casa de vegetação, por ocasião do ponto de colheita.....	77

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Crescimento Micelial de <i>Alternaria linariae</i> em meio de cultivo BDA (A) e meio de cultivo BDA + fermentado de <i>Ilex paraguariensis</i> na concentração 10% (B) após sete dias de incubação.....	53
Figura 2: Crescimento Micelial de <i>Septoria lycopersici</i> em meio de cultivo BDA (A) e meio de cultivo BDA+ fermentado de <i>Ilex paraguariensis</i> na concentração 10% após sete dias de incubação.....	53
Figura 3: Atividade de fenilalanina-amônia-liase (A), peroxidase (B) e polifenoloxidase (C) em plantas de tomateiro tratadas com macerado e fermentado de <i>Solanum mauritianum</i> e <i>Ilex paraguensis</i> em condições de casa vegetação .....	70
Figura 4: Atividade de fenilalanina-amônia-liase (A), peroxidase (B) e polifenoloxidase (C) em plantas de tomateiro tratadas com macerado e fermentado de <i>Solanum mauritianum</i> e <i>Ilex paraguensis</i> em condições de campo .....	72
Figura 5: Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para incidência de <i>Alternaria linariae</i> em plantas de tomate cultivadas em condição de casa de vegetação A e de campo B, em função de aplicação de fermentados e macerados (10%) de <i>Solanum mauritianum</i> e <i>Ilex paraguariensis</i> .....	74

## EFICIÊNCIA DE PREPARADOS VEGETAIS NO CONTROLE DE DOENÇAS FÚNGICAS E NA INDUÇÃO DE MECANISMOS DE DEFESA EM TOMATEIRO

**RESUMO:** O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) se apresenta como uma das culturas agrícolas mais importantes do mundo. Porém, as várias doenças que acometem a cultura, causam grande redução da produtividade e da qualidade dos frutos. Atualmente os produtos químicos sintéticos são os mais utilizados no controle da vasta gama de fitopatógenos que acometem a cultura, causando inúmeros danos ao meio ambiente, a saúde do agricultor e do consumidor. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência de preparados vegetais de plantas bioativas na indução de resistência, na incidência de doenças, no desenvolvimento e na produção de plantas de tomateiro. Os experimentos foram conduzidos em laboratórios, em casa de vegetação e em área experimental da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus Laranjeiras do Sul*. Inicialmente foi avaliado o efeito antifúngico *in vitro* dos preparados vegetais de 10 espécies bioativas sobre o crescimento micelial e sobre a germinação de esporos de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici*. Em seguida, foi determinado a eficácia dos preparados vegetais em induzir fitoalexinas, realizada em cotilédones de soja, hipocótilos de feijoeiro e mesocótilos de sorgo. Após, finalizados os ensaios *in vitro*, foram conduzidos dois experimentos, um em em condição de casa de vegetação e outro em cultivo a campo para avaliação do efeito dos preparados vegetais sobre o desenvolvimento de doenças foliares e na indução de mecanismos de defesa. As espécies vegetais bioativas utilizadas foram as duas que obtiveram maior eficiência nos testes preliminares *in vitro*, *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis*. Para o experimento em condição de casa de vegetação cada repetição constituiu-se de dois vasos contendo uma planta. Em condição de campo cada parcela foi constituída por seis plantas sendo a parcela útil composta por duas plantas centrais e o restante como bordadura. As pulverizações dos tratamentos foram realizadas aos 15, 30, 45, 60 e 75 dias após o transplântio. A concentração dos preparados utilizada foi de 10% em todos os experimentos. As avaliações da incidência de doenças foliares fúngicas foram realizadas a partir da primeira aplicação dos tratamentos, em intervalos de 15 dias. Foram determinados os teores de peroxidases, polifenoloxidades e fenilalanina amônia-liase. Também foram avaliados aspectos produtivos e do desenvolvimento das plantas. Os ensaios *in vitro* foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os ensaios em casa de vegetação e à campo foram conduzidos em blocos ao acaso com cinco repetições. Os resultados foram submetidos à análise de variância e teste de médias Tukey a 5% de probabilidade. Os testes preliminares *in vitro*, demonstraram o potencial das plantas bioativas no controle dos fungos *Septoria lycopersici* e *Alternaria linariae* além de demonstrarem elevado potencial na indução de fitoalexinas, com destaque para os fermentados e macerados das espécies *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis*. Para peroxidases, polifeniloxidades e fenilalanina-amônia-liase, os resultados mais expressivos foram induzidos pelo fermentado de *Solanum mauritianum*, e encontradas maiores induções em condição de campo. Os resultados demonstram o potencial do macerado e do fermentado das espécies bioativas *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis* na sanidade vegetal e na proteção de plantas.

**Palavras-chaves:** *Solanum lycopersicum* L. Proteção de Plantas. Doenças fúngicas foliares. Mecanismos de Defesa vegetal.

## EFFICIENCY OF VEGETABLE PREPARATIONS IN THE CONTROL OF FUNGAL DISEASES AND THE INDUCTION OF DEFENSE MECHANISMS IN TOMATOES

**ABSTRACT:** Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most important agricultural crops in the world. However, the various diseases that affect the crop, cause great reduction of productivity and fruit quality. Currently synthetic chemicals are the most used in controlling the wide range of plant pathogens that affect the crop, causing numerous damages to the environment, the health of the farmer and the consumer. In this context, the objective of the present work was to evaluate the efficiency of prepareds plants of bioactive plants in the induction of resistance, incidence of diseases, development and production of tomato plants. The experiments were conducted in laboratories, in a greenhouse and experimental area of Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus Laranjeiras do Sul*. Initially the *in vitro* antifungal effect of plant preparations of 10 bioactive species on mycelial growth and on germination of spores of *Alternaria linariae* and *Septoria lycopersici*. Next, the efficacy of plant preparations on inducing phytoalexins was determined, carried out on soybean cotyledons, common bean hypocotyls and sorghum mesocotyls. After the *in vitro* tests were finished, two experiments were carried out, one in protected cultivation and the other in field cultivation to evaluate the effect of plant preparations on the development of foliar diseases and the induction of defense mechanisms. The bioactive plant species used were the two that obtained the highest efficiency in the preliminary *in vitro* tests, *Solanum mauritianum* and *Ilex paraguariensis*. For the experiment installed in greenhouse each repetition consisted of two pots containing a plant. In field condition each parcel was constituted by six plants and the useful part was composed of two central plants and the rest as a border. Treatments were sprayed at 15, 30, 45, 60 and 75 days after transplanting. The concentration of prepareds was 10% in all experiments. The evaluations of the incidence of fungal foliar diseases were carried out from the first application of the treatments, at intervals of 15 days. The levels of peroxidases, polyphenoloxities and phenylalanine ammonia-lyase were determined. The productive aspects and the development of the plants were also evaluated. *In vitro* assays were conducted in a completely randomized design with four replicates. Greenhouse and field trials were conducted in randomized blocks with five replicates. The results were submitted to analysis of variance and Tukey averages test at 5% of probability. Preliminary tests *in vitro* demonstrated the potential of bioactive plants to control fungi *Septoria lycopersici* and *Alternaria linariae*, in addition to showing a high potential for induction of phytoalexins, especially fermented and macerated species of *Solanum mauritianum* and *Ilex paraguariensis*. For peroxidases, polyphenyl oxides and phenylalanine-ammonia lyase, the most expressive results were induced by the fermented *Solanum mauritianum*, and higher inductions were found in field culture. The results demonstrate the potential of the macerated and fermented bioactive species *Solanum mauritianum* and *Ilex paraguariensis* in plant health and plant protection.

**Keywords:** *Solanum lycopersicum* L. Plant Protection. Foliar fungal diseases. Mechanisms of plant.

### 1 INTRODUÇÃO

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L. (sinonímia *Lycopersicon esculentum* Mill. E *Lycopersicon lycopersicum* (L.) H. Karst.)) tem como centro de origem à região andina da América do Sul, e se apresenta como um dos frutos mais importantes do mundo devido a sua importância econômica e nutricional (JUNIOR, 2012).

Segundo Dossa e Fuchs (2017), o cultivo do tomate apresenta algumas vantagens por ser uma fonte importante de vitaminas e uma cultura comercial importante para pequenos agricultores. Além disso a cultura do tomate desenvolve-se bem em diferentes sistemas de cultivo, possui valor econômico elevado, teor de micronutrientes alto e os frutos podem ser processados, secos e enlatados. Apesar das vantagens para o cultivo, alguns entraves dificultam a produção, entre eles as

várias doenças que acometem a cultura, causando grande redução da produtividade e da qualidade do produto, além da redução considerável de rendimentos para o agricultor. A intensidade e frequência dessas doenças são variáveis em função da região, época de plantio, cultivar e, principalmente, das condições climáticas que ocorrem durante o desenvolvimento da lavoura.

Dentre as doenças do tomateiro tem destaque a pinta-preta (*Alternaria linariae* (Neerg.) E.G. Simmons) e a septoriose (*Septoria lycopersici* Speg). A presença das duas doenças de etiologia fúngica merecem maior atenção por promover significativos danos na produção, devido ao fato de serem de difícil controle. Por esse motivo surge a preocupação em levantar informações sobre o manejo fitossanitário da cultura do tomateiro que possam contribuir para o fortalecimento da atividade familiar (SANTANA et al., 2018).

Atualmente os produtos químicos sintéticos são os mais utilizados no controle da vasta gama de fitopatógenos que acometem a cultura tomateiro. No entanto o uso indiscriminado desses produtos pode provocar a contaminação de águas e do solo, afetar espécies da fauna e da flora, além de favorecer o surgimento de patógenos resistentes (SANTOS et al., 2014). Além disso, a incidência de doenças fúngicas e a dificuldade de controle configuram a grande limitação para produção orgânica de tomate (QUARTEZANI et al., 2018).

Como alternativa ao manejo convencional utilizado pelos agricultores, tem destaque o uso de plantas bioativas, que se baseia em uma ciência que busca unir os saberes populares ao científico, e desenvolver um modelo de produção menos impactante e agressivo do que o praticado atualmente. A essa ciência denominamos agroecologia. Dentro da agroecologia são muito utilizadas as plantas bioativas pelos agricultores, pois apresentam potencial uso como alternativa de fácil emprego e menor impacto ao ambiente, além de contribuir para maior independência do agricultor, para sustentabilidade e biodiversidade dos agroecossistemas. O uso dessas plantas acarreta em uma maior inclusão social, reduzindo os danos ambientais, fortalecendo a autonomia do agricultor e segurança alimentar, reduzindo os riscos de intoxicação humana, causados pelo atual modelo de produção agrícola, contribuindo para o desenvolvimento rural sustentável local.

Em meio a esse cenário deve-se destacar a importância de práticas de manejo como a rotação de culturas e adubação adequada para sanidade vegetal. No entanto, em muitos casos torna-se necessária a interferência com aplicação de produtos para evitar perdas expressivas na produção, principalmente em sistemas em fase de transição da agricultura convencional para a agroecologia (DELAZARI, 2014).

Assim, surge a necessidade de se identificar outras formas para o controle de doenças em plantas, como o uso de preparados de plantas bioativas que atualmente vêm sendo utilizados visando à redução do uso de fungicidas. Os preparados vegetais apresentam resultados promissores no controle de vários fitopatógenos, através de indução de mecanismos de defesa vegetal, que

favorece a proteção de plantas cultivadas com interesse agrônômico (CRUZ et al., 2011). Apesar do destaque dos preparados vegetais na fitossanidade de cultivos agrícolas, há poucos estudos sobre a eficiência de macerados e, principalmente, fermentados botânicos, sendo as informações limitadas do uso na proteção de plantas.

A indução de resistência é a ativação dos mecanismos latentes de defesa das plantas contra patógenos, o que pode ocorrer pelo tratamento destas com moléculas eliciadoras de origem biótica ou abiótica (LORENZETTI et al., 2018). Dentre os mecanismos de defesa da planta que podem ser ativados destaca-se as enzimas, como a peroxidase, envolvida nos processos de lignificação celular; polifenoloxidase que transforma fenóis em quinonas tóxicas aos microrganismos, e fenilalanina amônia-liase, enzima precursora da síntese dos fenilpropanóides envolvidos na defesa vegetal (STANGARLIN et al., 2011).

Nesse contexto, a pesquisa apresenta como objetivo geral avaliar a eficiência de macerados e fermentados de plantas bioativas na indução de resistência; na incidência de doenças e no desenvolvimento produtivo de plantas de tomateiro. Como objetivos específicos avaliar a atividade antifúngica direta *in vitro* de macerados e fermentados vegetais sobre *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici*; avaliar a eficácia dos macerados e fermentados vegetais em induzir fitoalexinas em cotilédones de soja, hipocótilos de feijoeiro e mesocótilos de sorgo; avaliar o efeito de macerados e fermentados vegetais sobre o desenvolvimento de doenças fúngicas foliares; na indução de mecanismos de defesa e sobre o crescimento e a produção de plantas de tomateiro em condições de campo e em casa de vegetação.

Assim esta pesquisa está organizada em dois capítulos, o primeiro corresponde aos testes *in vitro* de avaliação do efeito antifúngico dos preparados vegetais sobre o crescimento micelial e sobre a germinação de esporos de *A. linariae* e *S. lycopersici*; e sobre a indução de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo, cotilédones de soja e hipocótilos de feijão. O segundo capítulo

corresponde aos experimentos de avaliação do efeito dos preparados vegetais sobre o desenvolvimento de doenças foliares; na indução dos mecanismos de defesa; no crescimento e na produção de plantas de tomateiro em condições de casa de vegetação e a campo.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 A CULTURA DO TOMATEIRO**

O tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das principais hortaliças em termos sociais e econômicos, sendo uma importante fonte de emprego e renda no Brasil (CLEMENTE; BOITEUX, 2012). É altamente industrializado, nas formas de suco, molho, pasta e desidratada (FAOSTAT, 2011), além de ser um alimento funcional devido aos altos teores de vitaminas A, C e licopeno.

A cultura do tomateiro é muito exigente em mão de obra propiciando a geração direta e indireta de emprego. No entanto, a produção de tomate é considerada uma atividade de risco pelo fato, da cultura ser acometida por várias doenças que podem comprometer seu desenvolvimento e sua produção (JANTASORN et al., 2016).

O tomateiro também é uma das espécies de maior valor de vendas de sementes no Brasil e no mundo. O mercado de sementes de tomate expandiu a nível global especialmente após a introdução dos híbridos do segmento “longa vida” (NASCIMENTO et al., 2016).

Na cultura do tomateiro, a produção de mudas é uma das etapas mais importantes, aproximadamente 60% do sucesso de um cultivo depende do plantio de mudas de boa qualidade (ZECCHIN et al., 2015). Assim, ganham importância as técnicas que promovam o crescimento adequado das mudas, especialmente no sistema orgânico e agroecológico, dependentes de insumos alternativos, principalmente no que diz respeito ao controle de doenças fúngicas.

Na safra de inverno o abastecimento do mercado e os preços ficam de certa forma dependentes das condições climáticas específicas de cada região produtora. Na região Sul do Brasil, os preços se comportam de acordo com a oferta, considerada suficiente para abastecer o mercado, mas sempre sofrendo reflexo de ocorrências climáticas adversas, como chuvas, granizo e frio intenso (CONAB, 2018). Essas condições climáticas, em conjunto com o manejo errado da cultura e a escolha inadequada de cultivares não adaptadas para a região, favorecem o aparecimento de doenças de solo e de parte aérea, diminuindo a qualidade do produto final e os preços pagos ao agricultor.

Na escolha da cultivar deve-se levar em consideração algumas características, tais como o ciclo, que pode variar de 95 a 125 dias, entretanto este é grandemente influenciado pelo clima,

condições de fertilidade do solo, irrigação, ataque de pragas e incidência de doenças; características específicas de qualidade voltada para o mercado que se quer atender, como por exemplo sólidos solúveis, acidez, viscosidade, firmeza, coloração, tamanho e formato de fruto; características agronômicas, como a concentração da maturação, resistência e ou tolerância a pragas e doenças (EMBRAPA, 2018).

A qualidade dos alimentos (frescos ou processados) vem sendo considerada fator de segurança alimentar e nutricional, relacionada não só a produção em quantidades suficientes e acesso garantido, mas também à promoção do estado de saúde daqueles que os consomem, impulsionando o mercado de produtos orgânicos, e agroecológicos com destaque para o tomate (TOLEDO et al., 2011).

As cultivares de tomate destinadas ao consumo *in natura* podem ser divididas em quatro grandes grupos, Cereja, Italiano, Salada e Santa Cruz. Inicialmente os materiais do grupo Santa Cruz, foram selecionados pelos próprios agricultores, posteriormente as instituições de pesquisa iniciaram os programas de melhoramento.

Uma das cultivares híbridas da Santa Cruz, com destaque na produção orgânica de tomate, é a cultivar Santa Clara. Possui hábito de crescimento indeterminado; com ciclo de 100 a 120 dias; tolerante a Murcha de *Verticillum*, PVP, Murcha de *Fusarium* raça 1; apresenta frutos firmes, com boa coloração e peso médio de 180g; espaçamento recomendado para a cultivar é de 1,00 a 1,30 m entre fileiras e 0,40 a 0,60 entre plantas, com densidade de 10 a 17 mil plantas por há. Os tomates deste grupo são reconhecidos no mercado orgânico, sendo muito aceitos pelo consumidor devido ao sabor ligeiramente ácido que os frutos apresentam (EMBRAPA, 2018).

### **2.1.1 Fitossanidade da Cultura do Tomateiro**

Para que se obtenha uma produção satisfatória a cultura do tomateiro necessita superar uma série de problemas, especialmente os de natureza fitossanitária. Atualmente, o cultivo intensivo do tomateiro, tem tornado a produção dependente do uso de fungicidas químicos sintéticos. Estes, nem sempre apresentam resultados satisfatórios e duradouros; o uso de grandes quantidades de produtos químicos sintéticos na cultura, sendo a maioria prejudicial aos ecossistemas, bem como seus resíduos em frutos, são sérias ameaças à saúde humana (SANTOS et al., 2014).

Segundo o relatório do Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos, no período 2013 a 2015, de 730 amostras de tomate de mesa analisadas, em 62 foi identificado a presença de resíduos acima do LMR (Limite Máximo de Resíduos), e 200 apresentaram agrotóxicos não autorizados para cultura (ANVISA, 2016).

Existe grande interesse pelos pesquisadores na aplicação de produtos vegetais como biopesticida (SINGH; SRIVASTAVA, 2013), pois através do uso desses produtos vegetais, pode haver uma diminuição no uso de pesticidas químicos que têm um efeito indesejável na cadeia alimentar dos organismos presentes no ambiente e nos seres humanos. Além disso, os biopesticidas de planta são baratos, disponíveis localmente, não tóxicos, e são facilmente degradáveis (JANTASORN et al., 2016). A crescente demanda mundial por insumos menos tóxicos e alimentos livres de resíduos de pesticidas justifica a busca por fungicidas alternativos visando o controle de doenças de plantas na agricultura. Dentre estes, os indutores de resistência, vêm se destacando por apresentarem eficiência no controle de doenças em várias culturas e por serem praticamente atóxicos e não deixarem resíduos danosos à saúde humana e ao ambiente (SANTOS, 2013). Os indutores de resistência não atuam do mesmo modo que os agroquímicos convencionais, apresentam baixa toxicidade ao organismo alvo e ativam mecanismos de defesa latentes nas plantas contra agentes bióticos (OLIVEIRA et al., 2017).

Além dos indutores de resistência, outra alternativa menos agressiva ao uso de fungicidas químicos, é a utilização de preparados vegetais no controle de doenças fúngicas foliares na cultura do tomateiro. Apesar da utilização de algumas espécies serem ainda incipientes, na fabricação dos preparados, há inúmeros relatos de ação fungitóxica *in vitro* de extratos de diferentes espécies vegetais contra fungos fitopatogênicos (SANTOS et al., 2014).

Outra alternativa aos fungicidas sintéticos, bem difundida no controle de doenças fúngicas, se encontra na utilização de caldas, onde as mais utilizadas estão a bordalesa, viçosa e sulfocálcica. A calda bordalesa (sulfato de cobre e cal virgem) tem ação fungicida, bactericida e bacteriostática e é amplamente empregada em culturas como batata, tomate e pimentão. A calda viçosa (sulfato de cobre, sulfato de zinco, sulfato de magnésio, ácido bórico, cloreto de potássio e cal hidratada) também é preconizada para o controle de doenças fúngicas em várias culturas entre as quais o tomateiro. A calda sulfocálcica, cujo princípio ativo é o polissulfeto de cálcio, é um produto sulfurado, inorgânico com ação fungicida, acaricida e inseticida (SANTOS, 2013). Desta forma, novas substâncias alternativas no controle de doenças e associações de produtos com diferentes princípios ativos, devem ser estudadas, com intuito de maximizar o controle de algumas doenças na cultura, reduzir os custos de produção, além de preservar o meio ambiente (ZANATTO et al., 2018).

### **2. 1. 2 *Alternaria linariae* (Neerg.) E.G. Simmons**

A cultura do tomateiro tem relevância para o Brasil, tanto pela sua representação em área plantada quanto pela importância na dieta básica das pessoas (ASSI et al., 2017). No entanto, esta cultura é suscetível a grande número de doenças, tal como a pinta preta.

A pinta preta, causada pelo fungo *Alternaria linariae* é uma importante doença nas condições brasileiras de cultivo, devido ao seu alto potencial destrutivo. A ocorrência dessa doença no tomateiro exige cuidados extras, o que tem levado muitos agricultores a optarem pelo cultivo convencional, fortemente dependente do uso de defensivos químicos (HAMERSCHMIDT et al., 2012).

O aumento de suscetibilidade à pinta preta está geralmente associado às folhas mais velhas (baixeiras), pois ocorre uma demanda maior de açúcares e nutrientes para a formação de frutos em detrimento da folhagem, o que favorece o processo infeccioso em órgãos exportadores. Por este motivo, os sintomas aparecem primeiramente nas folhas mais velhas e progridem, posteriormente, para as partes mais altas da planta. Quando as condições ambientais são favoráveis, o patógeno também incide sobre as folhas mais novas. Nas folhas são observadas lesões necróticas de coloração marrom escura a preta, com bordos bem definidos, podendo ser mais ou menos circulares, elípticas ou irregulares e apresentar halo amarelado (PEREIRA et al., 2013).

Os conídios (esporos) do fungo são disseminados principalmente pelo vento, chuva ou irrigação, insetos, trabalhadores e implementos agrícolas. Sementes infectadas podem disseminar o patógeno a longas distâncias e constitui-se fonte de inóculo inicial (PEREIRA, LUCAS, 2015). O patógeno sobrevive de forma viável entre estações de cultivo em restos culturais infectados, em plantas voluntárias de tomateiro, e em outras solanáceas, tais como a batata e a berinjela. Segundo Pereira e Lucas (2015), a presença de água livre na folha ou umidade superior a 90% é essencial para os processos de germinação e infecção do patógeno. A germinação dos conídios ocorre em ampla faixa de temperatura (6° – 32°C) tendo como temperatura ótima entre 28 e 30°C. Nestas condições a germinação ocorre em menos de duas horas. A infecção tem início com a penetração das hifas diretamente através da cutícula ou ferimentos após a formação de apressórios.

Devido aos agressivos danos ocasionados pela doença, a adoção integrada de diferentes práticas é fundamental para o sucesso da produção. Devem se priorizar os métodos de combate preventivo, já que após o estabelecimento da doença o controle se torna mais difícil e os prejuízos podem ser maiores (PEREIRA et al., 2013).

Atualmente não existem cultivares comerciais de tomate resistentes à pinta preta, então outros métodos são recomendados para o manejo da doença, tais como, utilização de sementes e

mudas sadias, rotação de culturas com não hospedeiras por dois ou três anos, incorporação de restos culturais imediatamente após a colheita, eliminação de hospedeiras alternativas, adubação equilibrada para manter o crescimento vigoroso das plantas, cobertura do solo com palhada e irrigação preferencialmente por gotejamento (PEREIRA, LUCAS,2015).

Além desses métodos, as medidas de proteção de plantas é uma das alternativas que tem demonstrado resultados promissores, o uso de agentes bióticos e abióticos com propriedades antimicrobiana direta e/ou de indução de resistência, a qual consiste na ativação de mecanismos de defesa latentes existentes na própria planta hospedeira (STANGARLIN et al., 2011).

### **2.1.3 *Septoria lycopersici* Spegazzini**

A ocorrência da septoriose ou mancha-de-septória nos últimos anos tem aumentado em campos de produção de tomate no Brasil. A doença é causada pelo fungo *Septoria lycopersici* e ocorre praticamente em todas as regiões produtoras de tomate do mundo, sendo mais comum em épocas quentes e chuvosas (PEREIRA et al., 2013).

É favorecida por prolongados períodos de alta umidade e temperaturas moderadas. O patógeno causa severa desfolha das plantas, reduzindo de forma significativa a produtividade e a qualidade dos frutos. Em algumas regiões ou épocas de cultivo as perdas devido à doença podem chegar a 100% da produção, devido à morte das plantas (BALDICERA, 2014).

A septoriose pode ocorrer em qualquer fase de desenvolvimento do tomateiro, mas os sintomas normalmente aparecem nas folhas baixas logo após o início da frutificação, mas também podem aparecer nos pecíolos, caule e flores da planta, raramente nos frutos. Inicialmente aparecem na face inferior das folhas na forma de pequenas manchas encharcadas de formato mais ou menos circular a elíptica, medindo de 2 a 3 mm de diâmetro. À medida que a doença se desenvolve, as lesões adquirem coloração marrom acinzentada no centro com bordas escurecidas e halo amarelado estreito ao redor, podendo atingir até 5 mm de diâmetro. Em ataques severos as lesões coalescem, as folhas amarelecem, secam e caem. Atualmente não existem cultivares ou híbridos comerciais de tomate disponíveis comercialmente com níveis satisfatórios de resistência à septoriose (KIMATI et al., 2005).

As fontes de inóculo deste patógeno são as sementes, restos culturais, estacas utilizadas anteriormente, outras solanáceas cultivadas e invasoras. Insetos e implementos agrícolas, inclusive o homem, movimentando-se pela lavoura, entre as plantas úmidas podem disseminar o fungo (PEREIRA et al., 2013).

A fonte de resistência genética da planta de tomateiro a *S. lycopersici* é quantitativa e fortemente influenciada pelo meio ambiente. O contexto atual é de aumento da demanda por

menos resíduos de pesticidas, mesmo em cultivos convencionais. Considerando isso, e devido à dificuldade na obtenção de genótipos que apresentam bons níveis de resistência ao patógeno, a adoção de estratégias de manejo integrado para o combate à doença tornou-se de fundamental importância (CABRAL et al., 2013).

## 2.2 PLANTAS BIOATIVAS NA AGRICULTURA

Desde a pré-história, o ser humano vem aprendendo a se adaptar às circunstâncias e a tirar sua sobrevivência do meio ao seu redor, como, por exemplo, a caça para fins alimentares. Do mesmo modo, veio se desenvolvendo o conhecimento a respeito das plantas e suas utilizações (LEITÃO et al., 2014).

Segundo Rodrigues (2016), foi pela experimentação e avaliação, por povos primitivos, que determinadas propriedades das plantas tiveram seus valores descobertos e difundidos, constituindo-se como elemento da cultura popular (PEREIRA et al., 2016). No entanto, o conhecimento botânico popular encontra-se ameaçado por fatores como, pressões econômicas e culturais externas a comunidade, desinteresse deste saber pelos mais jovens, êxodo rural, o que leva ao desuso do conhecimento popular e, conseqüentemente, o desaparecimento (MERHY; SANTOS, 2017).

Inúmeras são as espécies vegetais que foram incorporadas às pesquisas única e exclusivamente, pelo acaso, caracterizado pelo uso empírico e tradicional de espécies vegetais, seguido de avaliação, mesmo que rústica e grosseira, até selecionar pela qualidade de respostas, se determinada espécie lhe seria útil ou não. O método usado é o mesmo método da tentativa e erro, ainda muito comum e útil em pesquisas de diversas áreas do conhecimento científico, que serve para mostrar a forte ligação entre o conhecimento popular e o científico (CASSAS et al., 2016).

O Brasil é o país que detém a maior diversidade vegetal do planeta. A utilização de plantas bioativas é um processo de produção e reprodução de diversos saberes e práticas, resultante de diferentes culturas, decorrente da organização social e produtiva de comunidades tradicionais. As plantas bioativas são consideradas aquelas que possuem alguma ação sobre outros seres vivos e cujo efeito pode se manifestar tanto pela sua presença em um ambiente quanto pelo uso direto de substâncias delas extraídas, desde que mediante uma intenção ou consciência humana deste efeito (SALES et al., 2015).

O conhecimento da sociedade tradicional acerca das propriedades agrônômicas das plantas bioativas, desperta o interesse de cientistas, que buscam comprovar, com testes químicos laboratoriais e experimentais, a eficácia das propriedades inseticidas, fungicidas e bactericidas

desse grupo de plantas. O número de estudos tem crescido acentuadamente no que tange o uso de preparados de plantas na sanidade vegetal, bem como o número de pesquisadores interessados nesta área (SANTOS et al., 2018), porém os fermentados botânicos dessas plantas ainda são pouco estudados.

O uso de plantas bioativas por populações da área rural na sanidade vegetal é oriundo dos conhecimentos acumulados mediante a relação direta dos seus membros com o meio ambiente e da propagação de uma série de informações tendo como influência o uso tradicional transmitido oralmente entre as diferentes gerações (ALBUQUERQUE, 2014).

Dentro do conceito amplo, em que está o termo “plantas bioativas”, na maioria das vezes, sua utilização se dá como ferramenta para o manejo de doenças de plantas no redesenho de agroecossistemas. Dessa forma é pensada a partir da possibilidade da extração de alguma substância do seu metabolismo capaz de ser aplicada sob a forma de um produto a ser pulverizado sobre os cultivos comerciais (MORAIS, 2013).

O aproveitamento de plantas bioativas pelos agricultores é dada principalmente na agricultura de base ecológica, como estratégia tecnológica para a produção sustentável de alimentos. Atualmente é uma possibilidade real e que deve ser discutida por agricultores, pesquisadores e extensionistas, confrontando e integrando o conhecimento tradicional e o científico de uso dessas plantas. Uma das formas de utilização das plantas bioativas nos agroecossistemas familiares se dá pela obtenção de preparados por meio de tecnologias de custo reduzido e baixa complexidade, para a produção de soluções com ação fungicida, bactericida e inseticida (TRIACA et al., 2018).

O conhecimento das plantas bioativas produzido cientificamente deve estar aliado ao conhecimento popular acumulado, o que, sem dúvida, dará suporte aos pequenos agricultores, na diminuição e substituição de uso de produto químico sintético por produtos alternativos de controle de fitopatógenos em espécies cultivadas, diminuindo os danos ao meio ambiente, à saúde do agricultor e aos consumidores (SANTOS et al., 2018).

A busca por métodos que sejam mais eficientes e que apresentem baixo custo, e sejam de rápida e de fácil execução, com garantia de reprodutibilidade dos efeitos em campo em diferentes regiões, tipos de solo e sistemas de manejo da cultura tomou-se uma das áreas mais promissoras na pesquisa em controle de doenças em plantas cultivadas (MEDEIROS; MONTEIRO, 2015).

A crescente procura por alimentos mais saudáveis incide na necessidade de se produzir utilizando meios eficientes de produção, que não causem danos à saúde e ao meio ambiente e de forma economicamente viável, o que também buscam os agricultores (TOLEDO et al., 2015).

Neste sentido se faz necessário resgatar o conhecimento tradicional acerca dos usos de preparados vegetais, para que se realizem estudos sobre a sua eficácia no manejo fitossanitário das culturas tornando-se indispensável, a intensificação de pesquisas com um novo enfoque de desenvolvimento tecnológico para o meio agrícola, enfatizando os novos conceitos de sustentabilidade.

### 2.3 PLANTAS BIOATIVAS COM POTENCIAL NA SANIDADE VEGETAL

O Brasil destaca-se por possuir uma das maiores biodiversidades do planeta, que reúne o conhecimento tradicional associado ao uso de plantas bioativas (HASENCLEVER, 2009). Muitas dessas plantas são utilizadas no meio agrícola pelos agricultores, que trabalham de forma ecológica, orgânica e agroecológica. Nesse sentido, é crescente a pesquisa no âmbito de comprovação do efeito dessas plantas na sanidade vegetal e na proteção de plantas.

As plantas bioativas possuem uma riqueza química por possuírem princípios ativos micro- biocidas, que podem ser empregados na defesa das plantas contra fitopatógenos (OLANDA, 2014). Diversas são as formas de utilização das plantas no controle de doença, porém obtém destaque o uso de extratos vegetais. Os extratos são preparações concentradas, que possuem consistências diversas, obtidas de matérias-primas vegetais secas, tratadas ou não previamente (inativação enzimática, moagem, entre outros) e preparadas por processos que envolvem a utilização de solventes. O processo de separação desses produtos naturais bioativos corresponde a três fases principais: extração a partir da matéria vegetal, fracionamento do extrato ou óleo e purificação do princípio ativo (LIMA JUNIOR, 2011). O produto é obtido pela passagem de um solvente, como por exemplo, a água ou o álcool etílico, através de partes de planta moída ou não, de modo a se retirar os princípios ativos contidos no vegetal. Para se escolher um método de extração, deve-se avaliar a eficiência, estabilidade das substâncias extraídas, disponibilidade dos meios e o custo do processo escolhido, considerando a finalidade do extrato a ser preparado. Os principais métodos de extração são maceração, percolação, infusão, decocção, extração em aparelho de Soxhlet e destilação por arraste a vapor (SANTOS et al., 2013).

No que se refere ao controle de fungos fitopatogênicos, produtos à base de plantas são empregados além do controle na proteção de plantas. Entretanto, as pesquisas envolvendo a procura de fungicidas obtidos de plantas só têm aumentado nos últimos 20 anos. Tem-se constatado, na literatura, pesquisas *in vitro* demonstrando que diversos patógenos podem ser controlados com eficiência, por meio de extratos vegetais (LIMA JUNIOR, 2011). Resultados promissores também têm sido obtidos com fermentados a partir de macerados porém as

informações ainda são escassas, isto justifica a importância da pesquisa com outros grupos de preparados além dos extratos vegetais.

A seguir encontram-se dez espécies de plantas bioativas de fácil obtenção e com possível potencial no controle alternativo de doenças e na proteção de plantas, utilizadas nesse trabalho.

### **2.3.1 Canela-Preta (*Ocotea catharinensis* Mez)**

O gênero *Ocotea* apresenta o maior número de espécies medicinais, e dentro desse gênero, a canela-preta é uma das mais antigas plantas conhecidas. No que diz respeito sobre seu uso no controle de fitopatógenos, na literatura se encontram diversos trabalhos que comprovam o efeito fungitóxico direto do óleo essencial e do extrato da canela, por exemplo sobre os fungos *Aspergillus flavus* e *A. niger*, onde foi obtida a inibição completa de crescimento a partir dos valores de 300 µL (ANDRADE, VIEIRA, 2016). Porém nada se encontra acerca do uso de fermentados da espécie na proteção de plantas.

### **2.3.2 Fumo-Bravo (*Solanum mauritianum* Scop.)**

A espécie *Solanum mauritianum* conhecida popularmente como fumo-bravo, fumeira, couvetinga e cassatinga, é um arbusto que ocorre desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, sendo encontrada também no Uruguai e Argentina (PINTO, 2011).

Em um estudo de levantamento etno veterinário Bezerra et al. (2014) relataram que algumas pessoas entrevistadas citaram o fumo-bravo, como carrapaticida, entretanto não foi encontrado trabalho que falasse do seu possível potencial terapêutico contra carrapatos. Na sanidade vegetal fermentados de fumo-bravo foram testados por Nascimento et al. (2014), que observaram seu efeito sobre fungos fitopatogênicos, com uma inibição de 100% do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* do tomateiro na concentração de 20% de fermentado (15 dias em processo de fermentação).

### **2.3.3 Erva-mate (*Ilex paraguariensis* st. Hil.)**

A erva-mate, é uma espécie nativa, pertencente à família botânica Aquifoliaceae, cuja produção e consumo são amplamente difundidos no sul do Brasil, devido à presença de ervas nativas e cultivadas na região, bem como por questões culturais (RIGO et al., 2014).

Triaca et al (2018), em trabalho utilizando fermentado botânico de erva mate, constataram que tanto o tratamento preventivo quanto o curativo apresentaram eficiência no controle do fitopatógeno *Sclerotinia sclerotiorum* na cultura da alface. Na concentração de 40% a eficiência foi total, onde ambos tratamentos a 40% apresentaram melhores resultados, se considerado o

tamanho e desenvolvimento das plantas, se comparado a testemunha água. Isto induz pensar que o fermentado possui propriedades que induzem o crescimento destas plantas, além de ser eficiente no controle de fitopatógenos.

#### **2.3.4 Eucalipto (*Corymbia citriodora* (Hook))**

Pertencente à família Myrtaceae, é conhecido popularmente como eucalipto. É uma planta cultivada em diversos países e de extrema importância do ponto de vista medicinal no tratamento de diversas doenças humanas.

Sua importância econômica envolve o controle biológico de pragas, a produção de perfumes, materiais de limpeza e papel, além do reflorestamento (GARBIM et al., 2014). Além disso, os óleos essenciais extraídos de diferentes espécies de eucalipto, de acordo com a literatura já apresentaram inibição total de diversos fitopatógenos tais como, *Bipolaris sorokiniana* Shoemaker, *Fusarium oxysporum* Schlelecht e *Colletotrichum gloeosporioides* (Penzig) Saccardo (LOZADA, 2016).

#### **2.3.5 Limão-Cravo (*Citrus limonia* Osbeck)**

Os citros apresentam uma taxonomia muito complexa, principalmente com relação ao número de espécies que constituem o gênero *Citrus* e gêneros correlacionados.

No que se refere ao uso no controle de fitopatógenos, vários estudos comprovam o efeito de óleos essenciais extraídos de plantas do gênero *Citrus* que atuam como fungicidas naturais inibindo a atividade de uma gama de fungos (RIBEIRO et al., 2013). Estes atuam tanto pela ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto pela indução de fitoalexinas, indicando a presença de composto(s) com característica(s) de elicitador(es) (BRUM et al., 2012). Porém, nada se contra sobre o uso de fermentados botânicos.

#### **2.3.6 Língua-de-Vaca (*Rumex obtusifolius* (Bitter Dock))**

*Rumex obtusifolius* (Polygonaceae), é uma planta amplamente estudada, pois é utilizada na medicina tradicional em diversos países da América do Sul. De acordo com a medicina popular, a raiz desta planta tem um pronunciado efeito desintoxicante no fígado e é usada contra icterícia, febre e como um tônico anti-anêmico. As raízes também são laxativas. Além disso, as folhas deste *Rumex* são usados contra problemas hepáticos, oculares e dermatológicos (KELEN et al., 2015).

Apesar do destaque desta espécie na medicina popular, pouco se sabe sobre seu efeito contra fitopatógenos, ou na proteção de plantas. Devido aos seus inúmeros compostos com alta eficiência no controle de doenças em humanos, e ao seu uso pelos agricultores se faz necessário, que os olhares da pesquisa se voltem aos seus aspectos fungicidas e repelentes, já que a espécie tem diversos compostos que ainda não foram identificados e pouco se sabe sobre seu modo de ação.

### **2.3.7 Mamona (*Ricinus communis* L.)**

Cientificamente pouco se sabe sobre o uso de suas folhas ou sobre seu efeito inibitório sobre o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos. A maioria dos trabalhos se baseiam em metodologias que testam o óleo ou derivados do mesmo. Porém de forma tradicional e empírica se sabe sobre o seu efeito inseticida, alelopático e fungicida, ainda pouco estudados pela literatura, porém com resultados muito promissores.

Ramos-López et al (2010) mostraram que extratos hexânicos, metanólicos e de acetato de etila de folhas exerceram atividade inseticida em larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Igualmente, extratos aquosos e acetônicos de folhas de mamona foram eficientes contra *Acromyrmex lundii* (Guérin-Méneville) (Hymenoptera: Formicidae) (CAFFARINI et al., 2008).

Em estudos realizados por Ribeiro e Bedendo (1999), extratos aquosos de folhas de mamona mostraram-se altamente eficiente na redução da esporulação do fungo *Colletotrichum gloesporioides*, *in vitro*, e também inibiu o desenvolvimento micelial em concentrações de 200 a 1000 ppm do extrato em meio de cultura Batata-Dextrose-Ágar (BDA).

### **2.3.8 Nêspera (*Eribothrya japonica* (Thunb.) Lindl)**

*Eribothrya japonica*, é uma planta perene, nativa do sul da China e naturalizada no Japão, Índia e em muitas outras áreas da Ásia. É cultivada principalmente para produzir frutos, no entanto, suas folhas também foram usadas desde os tempos antigos na medicina tradicional chinesa e atualmente tem ressurgido o seu uso para prevenir a anormalidades de pele, diabetes, bronquite crônica, tosse, úlceras e câncer (AHUMADA et al., 2017).

Devido aos efeitos benéficos na saúde humana, investiga-se suas propriedades na proteção de plantas e no controle de fitopatógenos, porém sem dados publicados.

### **2. 3. 9 Pinus (*Pinus elliottii* Engelm)**

O gênero *Pinus* pertence à família Pinaceae de gimnospermas e engloba mais de 100 espécies com grande potencial a ser explorado. A atividade antimicrobiana do gênero *Pinus* já foi estudada por vários autores, principalmente no que diz respeito aos óleos essenciais. Os óleos apresentam altos níveis de monoterpenos, caracterizando-os com várias atividades biológicas, como ação inseticida, antifúngica e antibacteriana (FAYEMIWO et al., 2014), porém a ação de macerados e fermentados é pouco estudada.

### **2.3.10 Samambaia (*Pteridium arachnoideum*. (Kaulf.) Maxon.)**

*Pteridium arachnoideum* é uma espécie conhecida popularmente como samambaião, samambaia das taperas ou samambaia do campo. No Brasil, sua distribuição se estende por todo território das regiões Sul e Sudeste, ocorrendo também em parte das regiões Nordeste e Norte (SCHWARTSBURD et al., 2014).

Muitos estudos sobre a fitoquímica de plantas do gênero *Pteridium* foram realizadas devido ao interesse farmacêutico e toxicológico das substâncias de seu metabolismo secundário. Porém, apesar do grande esforço empregado para se compreender aspectos biológicos, ecológicos e toxicológicos desta planta, ainda são necessários estudos para que se possa compreender adequadamente as diferentes atividades biológicas da grande quantidade de compostos secundários produzidos pela espécie *P. arachnoideum* (FURLAN et al., 2014). No que diz respeito do seu uso no controle de fitopatógenos e na proteção de plantas os estudos são escassos, o que se tem comprovado pela ciência é sobre seu poder alelopático sobre diversas plantas bioindicadoras e espécies arbóreas.

## **2.4 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA**

No contexto da proteção de plantas, se insere atualmente a indução de resistência, que pode ser visualizada como de ocorrência natural durante as interações hospedeiro-patógeno, necessitando apenas da interferência do homem para a possível utilização em escala comercial da mesma, ou de forma induzida (CARVALHO, 2012).

A indução de resistência consiste na ativação de mecanismos naturais de defesa das plantas contra patógenos em resposta ao tratamento prévio com indutores bióticos e abióticos. Essa resposta, a qual pode incluir, por exemplo, o acúmulo de fitoalexinas e enzimas de defesa, protegem a planta contra infecções subsequentes contra patógenos. Esses mecanismos de resistência são geneticamente determinados e sua efetividade mostra-se dependente da expressão dos mesmos no momento certo, magnitude adequada e em uma sequência lógica, após o contato do patógeno com o hospedeiro (STANGARLIN et al. 2010).

A ativação das respostas de defesa das plantas se inicia pelo reconhecimento do agente indutor ou do patógeno. No caso do patógeno, o reconhecimento pode ser mediado por receptores de reconhecimento (PRRs) de padrões moleculares associados aos patógenos/microrganismos (PAMPs/MAMPs) ou pela interação entre os genes de resistência (R) da planta e efetores do microrganismo (BALMER et al., 2013).

Após o reconhecimento, uma série de mudanças nos padrões transcricionais da célula vegetal ocorre, visando à defesa. Alguns dos mecanismos de defesa ativados podem envolver: produção de espécies reativas de oxigênio, ocasionando a explosão oxidativa na célula desafiada, constituindo o que se conhece como reação de hipersensibilidade (RH); ativação de genes de defesa; síntese de compostos tóxicos como as fitoalexinas; síntese de compostos capazes de promover mudanças estruturais na parede celular (PASCHOLATI et al., 2015). Adicionalmente, sinais podem ser translocados para partes distantes do sítio onde o eliciador foi percebido, incrementando os níveis de resistência da planta de maneira sistêmica (BALMER et al, 2013).

A resistência induzida por elicitores naturais, tem a vantagem de possibilitar o cultivo de variedades suscetíveis, causando, assim, menor impacto ao meio ambiente, impedindo o aparecimento de isolados tolerantes ao tratamento com indutores (BORGES et al., 2013). Este método alternativo de controle de doenças de plantas pode eliminar ou reduzir a dependência aos produtos químicos e possibilitar, em algumas culturas, a utilização de cultivares com alto potencial agrícola e reduzida resistência a determinados patógenos (CRUZ et al., 2011).

#### **2.4.1 Produção de Fitoalexinas**

Estudos realizados na Alemanha, com cultivares de batata atacados pelo fungo da requeima, levaram à descoberta de que as plantas resistentes acumulavam substâncias inibidoras do crescimento do fungo, o que não ocorria nas cultivares de batata suscetíveis à doença (BRAGA, 2015). Estas substâncias foram denominadas de fitoalexinas e sua descoberta causou profundas mudanças no conceito de resistência de plantas a patógenos.

As fitoalexinas (*phyton* = planta; *alexin* = composto de defesa) são um grupo de metabólitos secundários de baixo peso molecular e possuem ação antimicrobiana, com estrutura química variada podendo ser tanto flavonóides, quanto cumarinas, diterpenos, luteolinidina, apigenidina e apigeninidina (NEVES; BLUM, 2014).

As fitoalexinas são compostos sintetizados pelas plantas em resposta a ação de agentes bióticos ou abióticos. Compostos/moléculas capazes de induzir resistência em plantas são denominados de eliciadores ou elicitores. Mesocótilos estiolados de sorgo, cotilédones de soja e

feijão, são considerados como excelentes ferramentas em estudos para verificação da ação diferentemente dos anticorpos produzidos pelos animais, as fitoalexinas são produtos naturais, ausentes na planta sadia, acumulados temporariamente no local e nos arredores da infecção. Possuem atividade inibidora sobre bactérias, fungos, nematóides e efeito tóxico para animais e para as próprias plantas. Podem ser acumulados em resposta a vários microrganismos, mas também como consequência de fatores que causam estresse na planta, como ferimentos e exposição a substâncias tóxicas (BRAGA, 2015).

A síntese de fitoalexinas ocorre em inclusões citoplasmáticas próximas ao local da tentativa de penetração do patógeno. Sua ação nos fungos se dá por desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas. Esses efeitos refletem-se na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo e inibição do crescimento micelial (BRUZAMARELLO et al., 2018). Em sorgo são produzidos compostos fenólicos em resposta a inoculação com fungos patôgenicos ou tratamento com elicitores, sendo identificadas quatro fitoalexinas derivadas de antocianidinas (GOUVEA et al, 2011). Em soja, a fitoalexina gliceolina mostra-se importante na interação dessa leguminosa com fitopatógenos, sendo que a utilização de cotilédones de soja mostra-se como excelente ferramenta para estudos envolvendo ação elicitora de moléculas de origem biótica e abiótica (MAZARO et al., 2013).

A síntese de fitoalexinas nas plantas é um importante indicador da indução de defesa na planta. Assim, essas substâncias têm sido estudadas na avaliação do potencial indutor de resistência em plantas por diferentes compostos. Esses estudos comumente tem como objetivo geral a busca por alternativas para o controle de doenças que não apenas minimizam os danos ao meio ambiente, mas também proporcionam alimentos saudáveis, e reduzem o uso de insumos externos e agroquímicos. Nesse contexto destaca-se o uso de preparados vegetais que além de induzirem a produção de fitoalexinas em plantas, têm efeito direto sobre os fungos, alterando sua germinação, seu crescimento micelial e de hifas ou sua produção de esporos (PAZ et al., 2018).

Acredita-se que a maioria das plantas sejam capazes de sintetizar fitoalexinas, mas algumas a fazem de maneira muito lenta, permitindo que o microrganismo complete a infecção antes que haja o acúmulo dessas substâncias em quantidades suficientes para inibi-lo. Para diversas interações planta-patógeno foi demonstrado que a velocidade de acúmulo das fitoalexinas é um dos fatores decisivos para o estabelecimento ou não da infecção (BRAGA, 2015).

Telaxka et al (2018), verificaram que o extrato aquoso de *Solanum mauritianum* promoveu incremento de faseolina em hipocótilos de feijoeiro com o aumento na concentração utilizadas. Esse resultado mostra o potencial em induzir essa fitoalexina pelo extrato de *Solanum*

*mauritianum*. Brand et al (2010) avaliaram o efeito de extratos aquosos autoclavados e não autoclavados de *Rosmarinus officinalis* sobre a produção de faseolina no feijoeiro, e notaram que os extratos não autoclavados são mais efetivos na sua indução. Mazaro et al (2013), verificaram que os preparados da *Calendula officinalis* apresentaram estatisticamente ação significativa na indução das fitoalexinas gliceolinas em cotilédones de soja. De acordo com os resultados obtidos, a maceração apresentou os melhores resultados em comparação com infusão e o extrato alcoólico. Matiello e Bonaldo (2013), observaram que extratos brutos aquosos (EBA) das plantas medicinais *Ruta graveolens*, *Baccharis trimera* e *Origanum majorana* são efetivos na indução de fitoalexinas em cotilédones de Soja. O EBA da espécie *Ruta graveolens* foi capaz de induzir a síntese de fitoalexinas em mesocótilos de Sorgo em baixas concentrações, enquanto que os EBAs das espécies *Baccharis trimera* e *Origanum majorana* induziram em altas concentrações a síntese de fitoalexinas em mesocótilos de Sorgo.

Matiello et al (2016) utilizando em seu trabalho verificaram que os extratos brutos aquosos de *Dinizia excelsa*, *Gochnatia polymorpha* e *Corymbia citriodora*, foram eficientes na indução de fitoalexinas do tipo gliceolina em cotilédones de soja, sendo que a espécie responsável por maior acúmulo desse composto foi *Corymbia citriodora*. Em mesocótilos de sorgo, os extratos brutos aquosos de *Dinizia excelsa* e *Gochnatia polymorpha* induziram o acúmulo das fitoalexinas em baixas concentrações (1 e 5%). Gouvea et al. (2011) que, ao estudarem extratos vegetais de *Azadirachta indica* na indução de fitoalexinas de soja, verificaram que induziram a produção de fitoalexinas gliceolinas em soja. Guimarães (2012) obteve indução de fitoalexinas gliceolinas em cotilédones de soja, utilizando preparados de *Equisetum arvense*, em diferentes concentrações, com destaque para os preparados obtidos através de extração alcoólica, que apresentou superioridade em todas as concentrações, exceto nas de 1% e 40%.

## 2.5 MACERADOS E FERMENTADOS BOTÂNICOS NA SANIDADE VEGETAL

### 2.5.1 Obtenção de macerados e fermentados botânicos

Os preparados vegetais são preparações concentradas, de diversas consistências possíveis, obtidas a partir de matérias – primas vegetais secas, que passaram ou não por tratamento prévio e preparado por processos envolvendo um solvente. Dentre os diferentes tipos de preparados podemos citar, os extratos aquosos, hidroalcoólicos, glicólicos, hidropoliglicólicos ou oleosos; extratos fluídos; tinturas; elixires; macerados; fermentados; preparados homeopáticos entre outros (SANTOS et al., 2013). Dentre os processos de

obtenção de preparados, obtém destaque o uso da maceração, que consiste no simples contato da parte vegetal em estudo com o líquido extrator por um período de tempo determinado, o produto final desse processo se denomina macerado aquoso (OLIVEIRA et al., 2016).

O macerado é oriundo do processo de extração da matéria prima vegetal, usualmente realizada em recipiente fechado, temperatura ambiente, por período prolongado (horas ou até mesmo dias), sob agitação ocasional e sem a renovação do líquido extrator. Não conduz ao esgotamento da matéria prima vegetal secas ou frescas, devido à saturação do líquido extrator ou ao estabelecimento de um equilíbrio difusional entre o meio extrator e interior da célula. O líquido extrator utilizado no meio científico pode ser etanol, metanol, soluções hidroalcoólicas ou a água destilada (SANTOS et al., 2013).

O preparo do macerado pelos agricultores geralmente é realizado através da planta que é previamente dividida, e deixada em contato com o solvente (água, álcool etílico, vinho ou vinagre). Folhas, flores e sementes ficam de 30 min a 12 h. Talos, cascas e raízes duras, entre 22 e 24 horas e são filtradas em seguida. No caso da utilização de veículos como vinagre, álcool ou vinho, a maceração pode processar-se durante algumas horas ou dias, em temperatura ambiente (ALMEIDA, 2011).

O macerado comumente elaborado no meio científico é obtido a partir de material vegetal seco ou fresco, adicionado em um extrator. Quando o material vegetal utilizado é seco, este passa pelo processo de secagem em estufa a  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  por 72 h, para posteriormente ser moído em moinho de facas geralmente do tipo Willey. Após a obtenção do pó, é realizada a mistura do mesmo em extrator, que pode ser de vários tipos de acordo com a finalidade (BONFIM et al., 2013). O extrator mais utilizado devido à disponibilidade e facilidade de uso é a água. Depois de realizada a mistura o material permanece em escuro por um período de tempo determinado, para na sequência poder ser filtrado, dissolvido e utilizado (TRIACA et al., 2018). Quando o macerado é oriundo de material vegetal fresco, este não passa pelo processo de secagem.

As principais diferenças do macerado para os demais preparados vegetais são o líquido extrator, o tempo em que o material permanece em contato com o líquido e o não uso de temperatura no processo de maceração (OLIVEIRA et al., 2016).

A palavra fermentado significa “agente capaz de originar um processo bioquímico de transformação de uma substância” (ex.: fermento natural, fermento químico) (SARTORI; VENTURI, 2016).

A fermentação é um processo controlado por microrganismos que produzem um produto de alto valor nutritivo, a partir de substratos crus. Mais especificamente, a fermentação quebra ou converte os substratos indesejáveis em componentes compatíveis sob a ação de agentes

microbianos e enzimas, melhorando assim as propriedades do substrato através da produção e enriquecimento de compostos bioativos (HUSSAIN et al., 2016).

Para que a qualidade do produto final seja otimizada, os fermentados a base de plantas requer padronização das condições de fabricação, incluindo fatores tais como, meio de cultura microbiana, temperatura de fermentação, pH do meio, natureza do solvente, tipos de fermentação e tempo de incubação (HUSSAIN et al., 2016).

As etapas de preparo de um fermentado botânico tendo como matéria prima as plantas, inicialmente podem ser iguais às de preparo de um macerado (coleta, secagem e moagem do material vegetal) o que o diferencia deste e dos demais tipos de preparados é o tempo em que fica em contato com o líquido extrator (7, 10, 15, 21 dias) e as substâncias adicionais que melhoram o processo de fermentação aeróbica (açúcar, melaço etc). Esse tempo geralmente acarreta no processo de fermentação e faz com que ocorra uma série de transformações químicas e biológicas que melhoram a qualidade do produto final, pela presença de microrganismos benéficos. A fermentação ocorre de maneira espontânea e aeróbica, mantida em ambiente escuro até cessar a fermentação, e sofre agitação uma vez ao dia.

O processo de fermentação tem como objetivo extrair a clorofila e a seiva celular (fonte de hormônios vegetais, aminoácidos, dentre outros) das plantas, além de também propagar os microrganismos benéficos que potencializam os efeitos das substâncias extraídas, tornando o fermentado um produto vivo, possuidor de ação terapêutica e fisiológica. Tem sido relatado que na superfície das folhas das plantas vivem cerca de 100 a 150 mil microrganismos por 1 cm<sup>2</sup> e a grande maioria são lactobacilos e leveduras benéficas que contribuem para o desenvolvimento saudável das plantas (TRIACA et al., 2018).

### **2.5.2 Potenciais Benefícios de macerados e fermentados botânicos**

A utilização de macerados a base de plantas pelo homem em função dos seus benefícios vem desde muito antes do descobrimento do fogo. Para preencher suas necessidades básicas, o homem aprendeu a viver através de observações e tentativas, a partir de então, adquiriu a chamada sabedoria empírica passando a se utilizar dos macerados para buscar o tratamento ou cura de suas doenças (SJABELSKI, 2013).

O uso de macerado de plantas faz parte da cultura do povo brasileiro e tem sua base na tradição familiar. O conhecimento empírico era e é passado de geração em geração, sem que de fato houvesse comprovação da eficácia de propriedades medicinais das plantas utilizadas para o preparo, porém é fato que hoje testes são realizados com mais eficiência e apresentam resultados

positivos com relação ao uso de plantas medicinais em diversos tratamentos (SOUZA et al., 2015).

No que diz respeito do uso de macerado botânico na sanidade vegetal este também apresenta diversos benefícios, tais como a geração de novos compostos, os quais os patógenos não são capazes de inativar, além de serem menos tóxicos, de rápida degradação no ambiente, apresentarem amplo modo de ação e serem derivados de recursos renováveis. Os macerados vegetais podem apresentar potencial inseticida, fungicida, herbicida e nematicida, sendo considerados de boa eficiência (KOBAYASHY et al., 2018). Além disso, os macerados botânicos favorecem o desenvolvimento e o crescimento das plantas, e interferem positivamente na formação de frutos.

O processo de fermentação induz a quebra estrutural da parede das células vegetais, levando a liberação ou síntese de vários compostos antioxidantes (HUR et al., 2014). Nesse sentido os fermentados exercem efeitos benéficos sobre a absorção e biodisponibilidade de extratos vegetais, facilitando a produção ou a conversão de componentes ativos em seus metabólitos ou gerando substâncias de baixo peso molecular, tais como glicosídeo (HUSSAIN et al., 2016).

O uso de fermentados vegetais no controle de doenças em plantas é pouco pesquisado, no entanto, tem sido demonstrado que através da fermentação, as substâncias que compõem as plantas são quebradas em pequenas moléculas, através de enzimas produzidas pelos microrganismos presentes no fermentado, resultando em substâncias bio-disponíveis, de fácil e rápida absorção pelas plantas, podendo ser um produto mais eficiente se comparado aos macerados botânicos que não passam pelo processo de fermentação (SARTORI; VENTURIN, 2015).

Os fermentados aquosos à base de vegetais possuem inúmeros benefícios quando utilizados na sanidade vegetal, tais como: estimular a flora microbiana protetora das plantas, aumentando sua resistência ao ataque de pragas e doenças; estimular o processo fotossintético nas plantas; revitalizar a flora microbiana benéfica do solo e recuperar a fertilidade do mesmo; acelerar a decomposição de matéria orgânica; melhorar o enraizamento das plantas, estimulando o crescimento radicular; além de aumentar o conteúdo de vitaminas, minerais e outras substâncias (TRIACA et al., 2018).

Os fermentados botânicos têm sido de interesse, especialmente na agricultura orgânica, pois além dos benefícios citados acima, os fermentados têm demonstrado potencial efeito no crescimento de culturas tais como cebola, ervilha, milho doce, rabanete, feijão-caupi e tomate.

Pulverizações dos fermentados botânicos ajudam na promoção do crescimento de mudas e na produção de cultivos agrícolas (MUNGKUNKAMCHAO et al., 2013).

Além dos benefícios do uso de fermentados na agricultura, mais especificamente na sanidade vegetal, estes também podem vir a beneficiar os humanos em muitos aspectos, devido à presença de microrganismos presentes nos fermentados (ALBUQUERQUE, 2014). Hussain et al (2016), citam que os microrganismos estendem a vida útil dos alimentos pela produção de metabólitos tais como ácido orgânico, etanol e bacteriocinas; melhoram a segurança alimentar inibindo patógenos ou decompondo compostos tóxicos; melhoram o valor nutritivo pela produção de metabólitos como proteínas, aminoácidos essenciais, ácidos graxos essenciais e vitaminas; melhoram a qualidade dos alimentos organolépticos, produzindo ácidos desejáveis e compostos aromáticos.

Quando se selecionam microrganismos que já são produzidos comercialmente, se torna mais fácil para os produtores controlarem o processo de fermentação e, portanto, a qualidade do produto (HAVAS et al., 2014). Os microrganismos utilizados na produção moderna de fermentados em conjunto com demais microrganismos produzem um produto de melhor qualidade e com uma maior produção de aminoácidos. Para que se obtenha o máximo de produção de substâncias bioativas, as condições de fermentação precisam ser otimizadas. As condições incluem o pré-tratamento do substrato, a seleção dos microrganismos para fermentação, condições de pH e temperatura (FENG et al., 2017).

### **2.5.3 Uso de macerados e fermentados botânicos na sanidade vegetal**

Devido à crescente preocupação com os impactos do uso abusivo de produtos químicos sintéticos, busca-se a adoção de princípios de base ecológica no sentido de manejar cuidadosamente o agro ecossistema sem provocar danos desnecessários ou irreparáveis, buscando devolver sua elasticidade e força, ao mesmo tempo em que se esforça para combater as doenças de plantas (FERREIRA et al., 2015).

O emprego de macerados para o controle de doenças em plantas surge como uma nova alternativa visando à conservação do meio ambiente, a disponibilização de produtos de maior qualidade no mercado consumidor e a redução da aplicação de produtos químicos na lavoura, por utilizar material vegetal disponível, obtenção de extratos de maneira relativamente simples e sendo possível a utilização e obtenção de forma caseira (SILVA et al., 2017).

O emprego de macerados vegetais no manejo alternativo contra fitopatógenos (tabela 1) tem sido relatado no controle de doenças fúngicas e bacterianas em plantas no meio científico.

No caso de controle de fungos, o modo pelo qual os macerados atuam pode ser atribuído tanto à ação fungitóxica, quanto à indução de resistência (MELO et al., 2016).

O uso tradicional e/ou científico dos macerados vegetais visa extinguir e/ou substituir os agrotóxicos, seja para melhorar a qualidade dos alimentos produzidos, seja para o controle de fitopatógenos (PEIXINHO et al., 2017). Segundo Brito e Nascimento (2015), as plantas bioativas contêm princípios ativos que são responsáveis pelas ações terapêuticas, desencadeando diversas reações nos vegetais. Muitos macerados de plantas bioativas têm sido testados no controle de doenças em plantas com efeito significativo sobre fitopatógenos. Os resultados indicam, provavelmente, que os constituintes destes macerados apresentam potencial fungitóxico sobre o desenvolvimento do fungo, mesmo em baixas concentrações (TOLEDO et al., 2015). Na Tabela 1 são apresentados dados de macerados de espécies vegetais no controle de doenças de plantas.

Tabela 1: Espécies vegetais e seus macerados aquosos no controle de fitopatógenos.

<b>Espécie Vegetal</b>	<b>Fitopatógeno</b>	<b>Cultura Agrícola</b>	<b>Referência</b>
<i>Capsicum annuum</i> L	<i>Alternaria</i> sp.	-	Junior et al (2017)
<i>Capsicum baccatum</i> L.	<i>Fusarium oxysporum</i>	-	Junior et al (2017)
<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC	<i>Phytophthora</i> sp.	-	Bernardo et al (2015)
<i>Allium sativum</i> L.	<i>Fusarium</i> spp	-	Girardi et al (2009)
<i>Plectranthus barbatus</i> Andr.	<i>Alternaria</i> spp	-	Girardi et al (2009)
<i>Mentha sativa</i> L.	<i>Penicillium</i> spp	-	Girardi et al (2009)
<i>Brassica napus</i> L.	<i>Botrytis cinerea</i>	Morango	Cuzzi, 2013
<i>Equisetum</i> spp.	<i>Rhizoctonia</i> sp.	-	Guimaraães et al (2011)
<i>Ruta graveolens</i>	<i>Colletotrichum acutatum</i>	Morango	Camargo e Panizzi (2009)
<i>Artemisia absinthium</i>	<i>Colletotrichum acutatum</i>	Morango	Camargo e Panizzi (2009)
<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Diplocarpon rosae</i>	Roseira	Simon et al (2016)

A utilização de micro-organismos para fermentação (bio-transformação) da matéria vem desde a antiguidade, e a descoberta de micro-organismos, que podiam modificar um

determinado substrato, possivelmente, foi feita ao acaso. Através da observação do ambiente ao seu redor, o ser humano passou a perceber que certos processos aconteciam devido à presença de micro-organismos no meio (KIM et al., 2013).

O manejo de doenças em plantas cultivadas é comumente realizado principalmente através da aplicação de fungicidas. No entanto, devido à contaminação do ambiente, os prejuízos causados à saúde do homem e o surgimento de linhagens resistentes dos patógenos, tem-se buscado atualmente, medidas alternativas no manejo da doença que vise principalmente restaurar a biodiversidade (KOBAYASHI; AMARAL, 2018).

É nesse contexto que o uso de fermentados botânicos surge com grande relevância no controle de fitopatógenos em espécies cultivadas unindo os saberes tradicionais dos povos rurais e os conhecimentos científicos. Ambos os conhecimentos, buscam desenvolver formas de manejo, utilizando-se de fungicidas naturais que devido aos seus princípios ativos possam ser usados como ferramentas na proteção de plantas.

Ainda são escassas as informações do uso de fermentados botânicos na sanidade vegetal, tanto em trabalhos experimentais como de levantamentos do conhecimento empírico. Em uma das poucas publicações nesse sentido, Bertrand et al. (2008) apresentam informações práticas sobre o preparo e uso de fermentados de plantas para promover a sanidade vegetal.

Os fermentados botânicos vêm como uma das formas alternativas de controle e quando comparados aos produtos sintéticos, oferecem grandes vantagens, tais como: a geração de novos compostos, os quais os patógenos não são capazes de inativar, além de serem menos tóxicos, de rápida degradação no ambiente, apresentar amplo modo de ação e serem derivados de recursos renováveis (SANTOS et al., 2013). Na Tabela 2 são apresentados dados de fermentados de espécies vegetais no controle de doenças de plantas.

Tabela 2: Espécies vegetais e seus fermentados no controle de fitopatógenos.

<b>Espécie Vegetal</b>	<b>Fitopatógeno</b>	<b>Cultura Agrícola</b>	<b>Referência</b>
	<i>Alternaria alternata</i> ;		
<i>Sonchus sp.</i>	<i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i>	Citros e tomate	Triaca et al., 2014
<i>Ilex paraguariensis</i>			
A. St. Hil.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Alface crespa	Triaca et al., 2018
<i>Ricinus communis</i> L.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Tomate	Marschner, 2018
<i>Sedum hirsutum</i> All	<i>B. cinerea</i>	Morango	Aqueveque et al., 2016
<i>Solanum mauritianum</i> Scop.			
Voucher.	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Tomate	Nascimento et al., 2014
<i>Solanum mauritianum</i> Scop.			
Voucher.	<i>X. axonopodis pv. phaseoli</i>	Feijão	Telaxka et al., 2018
<i>Solanum mauritianum</i> Scop.			
Voucher.	<i>B. cinerea</i>	Morango	Minello et al., 2018
<i>Equisetum arvense</i> L.	<i>Diplocarpon rosae</i>	Roseira	Simon et al., (2016)

As plantas são comumente utilizadas pelos agricultores em suas unidades de produção, para os mais diversos fins. Porém, as plantas medicinais, seguidas das aromáticas e condimentares, ganham destaque no meio acadêmico e científico, em detrimento aos estudos relacionados com as tóxicas, espontâneas. deixando-se de lado as tóxicas, espontâneas etc. Apesar desse fato, é crescente o número de pesquisadores interessados em descobrir o potencial agrícola (inseticida, fungicida, alelopático e bactericida) dessas plantas.

Os preparados botânicos à base de plantas, vem ganhando destaque devido aos seus resultados promissores na proteção de plantas. Além disso, os macerados vegetais têm sua eficácia reconhecida pelos agricultores e pela ciência, através dos trabalhos publicados encontrados na literatura. No entanto, o uso de macerado de algumas espécies ainda precisa ser

estudado tanto pelos agricultores, quanto pelos pesquisadores, para que possa se tornar uma ferramenta acessível na sanidade vegetal.

Diferentemente dos macerados, os fermentados botânicos ainda são pouco estudados para uso na agricultura. O estudo e uso de fermentados de plantas tem sido mais direcionado para ciência de alimentos. Alguns poucos artigos científicos já tem demonstrado o potencial de fermentados no controle de doenças de plantas mas as informações ainda são escassas. A maioria das informações que sabe sobre seu uso na agricultura, mais especificamente para promover a sanidade vegetal, advém de algumas poucas publicações em livros ou cartilhas que trazem experiências práticas, algumas já do conhecimento tradicional de agricultores.

Por fim, vale ressaltar que a maior expressividade de trabalhos encontrados na literatura sobre derivados vegetais na proteção de plantas trata do uso de óleos essenciais e extratos vegetais em pesquisas realizadas principalmente a partir dos últimos 20 anos. Esse conhecimento permitiu grandes avanços no entanto a utilização a campo ainda é limitada. Assim, torna-se importante avançar na pesquisa dos preparados vegetais e aliar ao conhecimento tradicional e utilização prática a campo, buscando preparados de maior estabilidade, praticidade e eficiência.

## REFERÊNCIAS

AHUMADA, J.; et al. Bioactive compounds of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) cv. *Golden Nugget* and analysis of *in vitro* functionality for hyperglycemia management. **Ciência e Investigação Agrária**. v. 44, n. 3. p.272-284. 2017.

ALBUQUERQUE, U. P.; et al. Are ethnopharmacological surveys useful for the Discovery and development of drugs from medicinal plants? **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 24, n.1, p.110-115, 2014.

ALMEIDA, M. Z. **Plantas Mediciniais**. 3ed. Salvador: EDUFBA, 2011, pp. 146-208.

ANDRADE, W. P.; VIEIRA, G. H. C. Efeito dos óleos essenciais sobre a antracnose *in vitro* e em frutos de mamoeiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.1, p.367-372, 2016.

ANVISA- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Programa de análise de resíduos de agrotóxicos em alimentos – PARA: relatório 2013 e 2015**. Brasília, DF, 2016. 246p.

ASSI, L.; et al. Controle de *Alternaria solani* e de *Xanthomonas vesicatoria* em tomateiro por extrato formulado de *Pycnoporus sanguineus*. **Scientia Agrária Paranaensis**. v. 16, n. 3, p. 314-320, 2017.

AQUEQUEVE, P.; et al. Antifungal activities of extracts produced by liquid fermentations of Chilean Stereum species against *Botrytis cinerea* (grey mould agent). **Crop Protection**, v. 89, p. 95- 100. 2016.

BALDICERA, A. K. Desempenho de fungicidas no controle de *Septoria lycopersici* em tomateiro.

**Dissertação de Mestrado.** Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages. 50p. 2014.

BALMER, D.; et al. Induced resistance in maize is based on organ-specific defense responses. **The Plant Journal**, v. 74, p. 213-225, 2013.

BERNARDO, R.; et al. Atividade fungitóxica *in vitro* de extratos vegetais sobre o crescimento micelial de fungos fitopatogênicos. **Scientia Agraria Paranaensis**. v. 14, n. 2, p. 89-93, 2015.

BERTRAND, B.; et al. **Plantas para curar plantas**. 2 ed. Navarra: La fertilidad de la tierra 2008. 107p.

BEZERRA, L. R.; et al. **Plantas utilizadas no combate à ectoparasitoses pelos criadores do município de Bom Jesus, Sul do Piauí**. Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória ES, 2014.

BONFIM, F. P. G.; et al. Efeito de extratos aquosos de funcho na germinação e vigor de sementes de alface e salsa. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 7, n.2, p.218-228. 2013.

BORGES, I. V.; et al. Extrato de jurema preta no controle de mancha-de-alternaria em melancia. **Revista Caatinga**, v.26, p.36-45, 2013.

BRAGA, M. R. **Fitoalexinas e a defesa das plantas**. Instituto de Botânica. 6p. 2015. Acesso em 12 de dezembro de 2018, disponível em <[https://www.researchgate.net/publication/266282236\\_Fitoalexinas\\_e\\_a\\_Defesa\\_das\\_Plantas](https://www.researchgate.net/publication/266282236_Fitoalexinas_e_a_Defesa_das_Plantas)>.

BRAND, S.C.; et al. Extratos de alho e alecrim na indução de faseolina em feijoeiro e fungitoxicidade sobre *Colletotrichum lindemuthianum*. **Ciência Rural**, v.40, n.9, p.1881-1887, 2010.

BRITO, N. M.; NASCIMENTO, L. C. Potencial fungitóxico de extratos vegetais sobre *Curvularia eragrostidis* (P. Henn.) Meyer *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.17, n.2, p.230- 238, 2015.

BRUM, S. R. B. C. Efeito de óleos essenciais no controle de fungos fitopatogênicos. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, 135p. 2012.

BRUZAMARELLO, J.; et al. Potencial de fosfitos na indução de resistência em plantas de soja. **Cultura Agronômica**, Ilha Solteira, v.27, n.3, p.263-273, 2018.

CABRAL, R. N. et al. Mancha de Septoria em tomate orgânico sob diversos sistemas de irrigação estratégias de manejo da água. **Horticultura Brasileira**, v.31, n.3, 2013.

CAFFARINI, P.; et al. Efectos de extractos acetónicos y acuosos de *Ricinus communis* (ricino), *Melia azedarach* (paraíso) y *Trichillia glauca* (trichillia), sobre la hormiga negra común. **Idesia**, v.26, n. 3, p.59-64, 2008.

- CAMARGO, M. A. F. T.; 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.
- CARVALHO, N. L. Resistência genética induzida em plantas cultivadas. **Revista Eletrônica, em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.7, n.7, p.1379-1390. 2012.
- CASSAS, F. et al. Canteiros de plantas medicinais, condimentares e tóxicas como ferramenta de promoção à saúde no jardim botânico de Diadema, SP, Brasil. **Revista Ciência Em Extensão**, v.12, n.2, p.37-46, 2016.
- CLEMENTE, F. M. V. T.; BOITEUX, L. S. **Produção de tomate para processamento industrial**. 1º ed., Brasília: Embrapa, 2012. p. 17-27.
- CONAB- Companhia Nacional de Abastecimento. **Boletim Hortigranjeiro**, v. 4, n. 8, p.35-39. 2018.
- CRUZ, S. M. C.; et al. Ação indutora de produtos abióticos na resistência de tomateiro e efeito sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. **Idesia**, v. 29, n.2. 2011.
- CUZZI, C. Extratos de canola no controle de *Botrytis cinerea in vitro* e de mofo cinzento em pós colheita de morangos. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco. 64p. 2013.
- DELAZARI, F. T. Produção e qualidade de frutos do tomateiro no sistema Viçosa de tutoramento em função do estado hídrico – nutricional. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Viçosa. Minas Gerais. 68p. 2014.
- DOSSA, D.; FUCHS, F. **Tomate: análise técnico – econômico e os principais indicadores da produção nos mercados mundial, brasileiro e paranaense**. Boletim Técnico 03, p.1-2. 2017. Acesso 25 de dezembro de 2018, disponível em <[http://www.ceasa.pr.gov.br/arquivos/File/BOLETIM/Boletim\\_Tecnico\\_Tomate1.pdf](http://www.ceasa.pr.gov.br/arquivos/File/BOLETIM/Boletim_Tecnico_Tomate1.pdf)>.
- EMBRAPA. **A cultura do tomate**. 2018. Acesso 23 de dezembro de 2018, disponível em <<https://www.embrapa.br/en/hortalicas/tomate-de-mesa/cultivares2>>.
- FAOSTAT - Food and Agriculture Organization of United Nations. **Food and Agricultural commodities production** [Online]. 2011. FAYEMIWO, K. A.; et al. Larvicidal efficacies and chemical composition of essential oils of *Pinus sylvestris* and *Syzygium aromaticum* against mosquitoes. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.4, n.1, p. 30-34, 2014.
- FENG, Y.; et al. Recent research process of fermented plant extract: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 65, p.40-48. 2017.

FERREIRA, R. B. et al. Resíduos orgânicos no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*). **Acta biológica Colombiana**, v. 2, n.3, p.111-120. 2015.

FURLAN, F. H.; et al. Acute poisoning by *Pteridium arachnoideum* and *Pteridium caudatum* in cattle and distribution of the plants in Mato Grosso. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 343–348, 2014.

GARBIM, T. H. S.; et al. Efeito de diferentes concentrações do óleo essencial de *Eucalyptus globulus* Labill no crescimento de plântulas e na germinação de sementes de alface (*Lactuca sativa*). **Revista de Ciências Agroambientais**, v.12, n.2, p.109-114, 2014.

GIRARDI, M. **Atividade antifúngica do fermentado botânico de mamona (*Ricinus communis*) sobre o desenvolvimento de *Sclerotinia sclerotiorum***. 2018. Acesso 16 de janeiro de 2018, disponível em <[http://jovenspesquisadores.com.br/uploads/posteres/1/jovem-giovanna-2018\\_2\\_04\\_13.pdf](http://jovenspesquisadores.com.br/uploads/posteres/1/jovem-giovanna-2018_2_04_13.pdf)>.

GUIMARÃES, S. S.; et al. **Atividade fungistática *in vitro* de extratos de cavalinha (*Equisetum spp.*) sobre *Rhizoctonia sp.*** 2011. Acesso 22 de janeiro de 2019, disponível em <[http://revistas.utfpr.edu.br/dv/index.php/CCT\\_DV/article/viewFile/608/320](http://revistas.utfpr.edu.br/dv/index.php/CCT_DV/article/viewFile/608/320)>.

GUIMARÃES, S. S. Potencial de preparados de cavalinha (*Equisetum sp.*) na síntese de metabólitos de defesa em cotilédones de soja (*Glycine max* L.) e o efeito sobre o crescimento de *Rhizoctonia solani*, *in vitro*. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Pato Branco, PR. 29p. 2012.

GOUVEA, A.; et al. Efeito de extratos vegetais em soja sob condições de laboratório e campo. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.6, n.2, p. 70-78, 2011.

HAMERSCHMIDT, I.; et al. **Manual de olericultura orgânica**. Curitiba: EMATER/SEAB, 2012. 129p.

HASENCLEVER, L. Diagnóstico dos desafios e oportunidades no mercado de Plantas Medicinais e Fitoterápicos brasileiro. Rede de Inovação da Biodiversidade da Amazônia. Brasília: **Centro de Gestão e Estudos Estratégicos**, 2009.

HAVAS, P.; et al. Fruit and vegetable juice fermentation with bifidobacteria. **Acta Alimentaria**, v.43, p.64-72. 2014.

HUR, S. J.; et al. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant based foods. **Food Chemistry**, v. 160. P. 346-356. 2014.

HUSSAIN, A. et al. Fermentation, a feasible strategy for enhancing bioactivity of herbal medicines. **Food Research International**, v. 81. p.1-16. 2016.

JANTASORN, A., et al. *In vitro* antifungal activity evaluation of five plant extracts against five plant pathogenic fungi causing rice and economic crop diseases. **Journal of Biopesticides**, v.9, n.1, p.1-7, 2016.

JUNIOR, G. R.V.; et al. Extratos de espécies de *capsicum* no controle *in vitro* de patógenos de importância agrícola. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.14 n.25; p. 673-686. 2017.

JUNIOR, F. P. B. Produção de tomate (*Solanum lycopersicum*L.) reutilizando substratos sob cultivo protegido no município de Iranduba – AM. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Amazonas. Manaus. 60p. 2012.

KELEN, M. E. B.; et al. Plantas alimentícias não convencionais. 1ed. Porto Alegre. **UFRGS**. 2015.

KIMATI, H.; et al. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4.ed. São Paulo: Agronômica Ceres. v. 2, p.607-626. 2005.

KIM, C. M. et al. Red -koji fermented red ginseng ameliorates high fat diet induced metabolic disorders in mice. **Nutrients**, v.5, n.11, p.4316-4332. 2013.

KOBAYASHI, B. F.; AMARAL, D. F. Efeito de extratos vegetais de plantas do Cerrado para controle de pinta-preta em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.2, p.189-192, 2018.

LEITÃO, F.; et al. Medicinal plants traded in the open-air markets in the State of Rio de Janeiro, Brazil: na overview on their botanical diversity and toxicological potential. **Revista Brasileira Farmacognosia**, v. 24, n.4, p 225-247, 2014.

LIMA JUNIOR, A. F. Efeito de diferentes extratos vegetais no controle de *Anthoscelides obtectus* e *Sitophilus* sp. **Dissertação de Mestrado**. Unidade Universitária de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 67p. 2011.

LORENZETTI, E.; et al. Indução de resistência à *Macrophomina phaseolina* em soja tratada com extrato de alecrim. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 1, p. 45-50, 2018.

LOZADA, M. I. O. Eficiência dos óleos essenciais para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. cepae em sementes de cebola e seu efeito na qualidade fisiológica. **Dissertação de Mestrado**. Universidade de Brasília. Brasília, 98p. 2016.

MADEIRO, S. A. A.; LIMA, C. R. Estudos etnofarmacológicos de plantas medicinais utilizadas no Brasil: revisão de literatura. **Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 3, n.1, p. 69-76. 2015.

MATIELLO, J., BONALDO, S. M. Atividade elicitora de fitoalexinas em Soja e Sorgo por extratos e tinturas de espécies medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, n.4, p.541-550, 2013.

MATIELLO, J.; et al. Síntese de fitoalexinas em soja e sorgo por extratos e tinturas pertencentes a três espécies florestais. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v.9, n.3, p. 617-633, 2016.

- MAZARO, S. M.; et al. Potencial de extratos à base de *Calendula officinalis* L. na indução da síntese de fitoalexinas e no efeito fungistático sobre *Botrytis cinerea*, *in vitro*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, n.2, p.208-216, 2013.
- MEDEIROS F. H. V.; MONTEIRO F. P. **Perspectivas do controle biológico de doenças de plantas no Brasil**. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 360p. 2015.
- MELO, L. G. L. et al. Indutores de resistência abióticos no controle da fusariose do abacaxi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.51, n.10, p.1703-1709, 2016.
- MERHY, T. S. M.; SANTOS, M. G. A etnobotânica na escola: interagindo saberes no ensino fundamental. **Revista Práxis**, v.9, n.17, p.9-22, 2017.
- MINELLO, L.; et al. **Controle alternativo dos fungos *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* e *Botrytis cinerea* a partir de Fermentados de plantas**. Acesso em 20 dez de 2018, disponível em <[https://www.uces.br/site/midia/arquivos/modelo\\_resumo\\_agric\\_sustentavel.pdf](https://www.uces.br/site/midia/arquivos/modelo_resumo_agric_sustentavel.pdf)>.
- MORAIS, L. A. S. Plantas medicinais e aromáticas como defensivos naturais. **Revista Casa da Agricultura**, v. 16, n.3, p.21-22. 2013.
- MUNGKUNKAMCHAO, T.; et al. Wood vinegar and fermented bioextracts: Natural products to enhance growth and yield of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Scientia Horticultura**, v. 154, p. 66–72. 2013.
- NASCIMENTO, M. et al. **Avaliação antifúngica dos fitopatógenos do tomateiro *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* e *Sclerotinia sclerotiorum* com fermentados das plantas *Solanum mauritianum*, *Chrysanthemum anerhifolium* e *Struthanthus flexicaules***. XXII Encontro de Jovens pesquisadores: IV Mostra acadêmica de inovação e tecnologia, UCS, 2014.
- NASCIMENTO, W. M.; et al. Germinação de sementes de tomateiro em diferentes temperaturas: Variabilidade fenotípica e heterose. **Horticultura Brasileira**, v.4, n. 1, p. 216-222. 2016.
- NEVES, J. S.; BLUM, L. E. B. Influência de fungicidas e fosfito de potássio no controle da ferrugem asiática e na produtividade da soja. **Revista Caatinga**, v. 27, n. 1, p.75- 82, 2014.
- OLANDA, G. B. Uso de plantas bioativas no controle da antracnose na cultura do feijão. **Dissertação de Mestrado**. Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas. Pelotas. 54p. 2014.
- OLIVEIRA, J. S. B.; et al. Homeopatas de óleos essenciais sobre a germinação de esporos e indução de fitoalexinas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 48, n. 1, p. 208-215. 2017.
- OLIVEIRA, J. S. B.; et al. Activation of biochemical defense mechanisms in bean plants for homeopathic preparations. **African Journal of Agricultural Research**, v.9, n. 11, p. 971-981. 2014.

OLIVEIRA, V. B.; et al. Efeito de diferentes técnicas extrativas no rendimento, atividade antioxidante, doseamentos totais e no perfil por clausol de *dicksonia sellowiana* (presl.). Hook, dicksoniaceae. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.1, p.230-239, 2016.

PASCHOLATI, S. F.; et al. Indução de resistência contra patógenos: definição e perspectivas de uso. **Visão Agrícola**, v.13, n.1, p.110-112. 2015.

PAZ, D. S.; et al. Reaction of *papaya* genotypes to target spot and activity of planta extracts and *Bacillus spp.* on *Corynespora casiicola*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.40, n.1. 2018.

PEIXINHO, G. S. et al. Avaliação da eficiência de extratos de plantas nativas da caatinga sobre o controle da podridão seca (*Lasiodiplodia theobromae*) em cachos da videira cv. Itália. **Summa Phytopathologica**, v.43, n.2, p.155-157, 2017.

PEREIRA, A. R. A.; et al. Uso tradicional de plantas medicinais por idosos. **Revista Rene**, v. 17, n.3, p.427-434, 2016.

PEREIRA, R. B.; et al. **Recomendações para o manejo da septoriose em tomateiro**. Comunicado Técnico 96. Embrapa Hortaliças. 2013.

PEREIRA, R. P.; LUCAS, G. C. **Pinta Preta**. Informe Técnico. 3p. 2018. Disponível em <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/124187/1/Cultivar-HF-ano-8-n-91-abr-maio.pdf>>, acesso em 15 dezembro de 2018.

PINTO, F. C. L. et al. Glicoalcalóides antifúngicos, flavonóides e outros constituintes químicos de *Solanum asperum*. **Química Nova**, v. 34, n. 2, 2011.

QUARTEZANI, W. Z.; et al. Análise geoestatística do “vira-cabeça” na cultura do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v.44, n.1, p.51-55, 2018.

RAMOS-LÓPEZ, M. A.; et al. Activity of *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **African Journal of Biotechnology**, v.9, n.1, p.1359-1365, 2010.

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

RIBEIRO, M. C. V.; et al. **Óleos essenciais no controle do oídio em pimentão**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013. CD-ROM.

RIGO, L.; et al. **Análise do mercado da erva-mate no Brasil e no Rio Grande do Sul**. Área Temática - D. Estudos setoriais, cadeias produtivas, sistemas locais de produção. 15 p. 2014.

RODRIGUES, W. Competitividade e mudança institucional na cadeia produtiva de plantas medicinais no Brasil. **Interações**, v. 17, n. 2, p. 267–277, 2016.

SALES, M. D. C.; et al. Etnobotânica e Etnofarmacologia: medicina tradicional e bioprospecção de fitoterápicos. **Revista Salus**, v.1, n. 1, p. 17-26, 2015.

SANTANA, M. S.; et al. Incidência de doenças fúngicas no maracujazeiro (*Passiflora edulis* sp.) em propriedades familiares no município de alta floresta – MT. **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.15 n.27; p. 2. 2018.

SANTOS, C. S.; et al. Efeito do extrato de plantas no controle de fungos do tomateiro. **Fragmentos de Cultura**, v. 24, n. 1, p. 139-151. 2014.

SANTOS, L. S. N.; et al. O saber etnobotânico sobre plantas medicinais na comunidade de Brenha, Redenção, CE. Agrarin Academy, **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.5, n.9, p. 409-421. 2018.

SANTOS, P. H. Produtos alternativos no controle de doenças fúngicas foliares em folha e fruto de mamoeiro. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Rio de Janeiro. 90p. 2013.

SANTOS, P. L.; et al. Utilização de Extratos vegetais em proteção de plantas. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.9, n.17; p.2562-2576. 2013

SARTORI, V. C.; VENTURIN, L. **Tecnologias alternativas para o fortalecimento da agricultura familiar na Serra gaúcha**. Editora Traço Diferencial. Educs, 2ed. 115p. 2016.

SCHWARTSBURD, P. B.; et al. Recognition of two morpho-types in eastern South American brackens (*Pteridium-Dennstaedtiaceae* Polypodiopsida). **Phytotaxa**, v. 170, n. 2, p. 103–117, 2014.

SJABELSKI, R. S. **Plantas medicinais de uso popular no Município de Major Vieira**. SC. Florianópolis. 2013.

SILVA, E. O.; et al. Óleos essenciais no controle da pinta bacteriana e na ativação de respostas bioquímicas em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v.43, n.3, p.212-217, 2017.

SIMON, J. M. et al. Atividade fungitóxica de extratos vegetais e produtos comerciais contra *Diplocarpon rosae*. **Summa phytopathologica**, v. 42, n. 4.p. 351-356. 2016.

SINGH, P.; SRIVASTAVA, D. Phytochemical Screening and *In Vitro* Antifungal Investigation of *Parthenium Hysterophorus* extracts against *A. alternata*. **International Research Journal of Pharmacy**, v.4, n.1, p.190-193, 2013.

SOUZA, M. R. et al. Fitoterápicos no tratamento de transtornos de ansiedade. **Electronic Journal of Pharmacy**, v. 12, n.1, p. 11-12, 2015.

STANGARLIN, J. R.; et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.10, n. 1, p.18-46, 2011.

TELAXKA, F. J.; et al. Extrato aquoso e fermentado de fumo-bravo (*Solanum mauritianum* Scop) na proteção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) ao crestamento bacteriano comum. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v.8, n.3, p.81-90, 2018.

TOLEDO, D. S.; et al. Production and quality of tomato fruits under organic management. **Horticultura Brasileira**, vol. 29, n.3, p. 253-257. 2011.

TOLEDO, M. V.; et al. Controle da Pinta Preta e Efeito Sobre Variáveis de Crescimento em Tomateiro por Preparados Homeopáticos. **Summa Phytopathologica**, v.41, n.2, p.126-132, 2015.

TRIACA, T.; et al. Avaliação *in vivo* do fermentado botânico de *Ilex paraguariensis* frente ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum* no cultivo de alface crespa. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**. v.11, n.1, p.51-58, 2018.

ZANATTO, I. D.; et al. Fungicidas e extrato etanólico de própolis no controle de doenças de final de ciclo da cultura da soja. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 4, n., p. 165-174. 2018.

ZECCHIN, V. J. S.; et al. Tomato seedlings growth (*Solanum lycopersicum*) promoted by bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 in organic system. **Revista de Ciências Agrárias**, v.38, n. 1. 2015.

## **CAPÍTULO I: EFICIÊNCIA DE PREPARADOS DE PLANTAS BIOATIVAS NA INDUÇÃO DE FITOALEXINAS E NO CONTROLE *in vitro* DE *Alternaria linariae* E *Septoria lycopersici***

**RESUMO:** Atualmente dentre os fatores que colocam em risco a produtividade da cultura do tomateiro, destacam-se as injúrias causadas por doenças fúngicas que inviabilizam o seu escoamento e trazem prejuízos significativos ao produtor. Dentre as doença fúngicas foliares se tem destaque *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici*. Trabalhos que utilizam preparados vegetais na proteção de plantas, mostram seu potencial no controle de fitopatógenos, por sua ação fungitóxica direta e pela capacidade de induzir o acúmulo de fitoalexinas, mas ainda há pouca informação sobre preparados de algumas plantas. Nesse contexto, o objetivo do presente capítulo foi de avaliar o potencial de preparados vegetais de plantas bioativas na inibição do crescimento micelial e na germinação de esporos de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici*, além de verificar sua capacidade de indução de fitoalexina em sementes de soja, feijão e sorgo. Os experimentos foram desenvolvidos no laboratório de Fitopatologia, na Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Laranjeiras do Sul, PR. As plantas bioativas foram coletadas, secas em estufa e moídas em moinho do tipo Willey. Para a formulação do macerado e do fermentado foi utilizado 150g do material vegetal seco e triturado permanecendo por um período de 24h e 10 dias respectivamente em contato com 1,5L de água destilada e utilizados na concentração de 10%. Foram realizados ensaios de avaliação do potencial antifúngico dos preparados vegetais sobre o crescimento micelial e sobre a germinação de esporos de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici*. Além de ensaio de indução de fitoalexinas em sementes de soja, feijão e sorgo. Os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Para o ensaio de crescimento micelial e germinação de esporos os tratamentos à base de *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum*, obtiveram os melhores resultados, tendo destaque o fermentado de *Ilex paraguariensis*. Para o ensaio de indução de fitoalexinas se destacaram as espécies bioativas *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum*. Os preparados a base das plantas bioativas *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum*, podem vir a ser alternativas para

o desenvolvimento de uma ferramenta viável, de fácil acesso e de baixo custo, no controle de fitopatógenos e na proteção de plantas.

**Palavras Chave:** Controle Preventivo. Doenças Fúngicas Foliaves. Plantas Bioativas.

## **EFFICIENCY OF PREPARATIONS OF BIOACTIVE PLANTS IN THE INDUCTION OF PHYTOALEXINS AND *in vitro* CONTROL OF *Alternaria linariae* AND *Septoria lycopersici***

**ABSTRACT:** Currently among the factors that jeopardize the productivity of the tomato crop are the insults caused by fungal diseases that make their run unfeasible and bring significant losses to the producer. Among the fungal foliar diseases, *Alternaria linariae* and *Septoria lycopersici* are prominent. Studies that use plant preparations to protect plants show their potential in the control of phytopathogens, their direct fungitoxin action and the ability to induce the accumulation of phytoalexins, but there is still little information about the preparation of some plants. In this context, the objective of this chapter was to evaluate the potential of plant preparations of bioactive plants in the inhibition of mycelial growth and spore germination of *Alternaria linariae* and *Septoria lycopersici*, in addition to verifying their capacity of phytoalexin induction in soybean, beans and sorghum. The experiments were carried out in the Phytopathology laboratory, at the Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus Laranjeiras do Sul*, PR. The bioactive plants were collected, dried in greenhouse and milled in a Willey type mill. For the formulation of macerated and fermented 150g of the dry and crushed plant material were used for 24 h and 10 days respectively in contact with 1.5L of distilled water and used in 10% concentration. Tests were carried out to evaluate the antifungal potential of plant preparations on mycelial growth and spore germination of *Alternaria linariae* and *Septoria lycopersici*. In addition to the phytoalexin induction assay in soybean, beans and sorghum seeds. The trials were conducted in a completely randomized design with four replicates. For the mycelial growth and spore germination assay, the treatments based on *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum*, obtained the best results, highlighting the fermented yerba mate. For the phytoalexin induction assay the bioactive species *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum*. The preparations based on the herbicide and wild-type bioactive plants *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum* may be alternatives for the development of a viable, easily accessible and inexpensive tool for the control of plant pathogens and plant protection.

**Key Words:** Preventive Control. Foliar Fungal Diseases. Bioactive Plants.

### **1 INTRODUÇÃO**

Atualmente dentre os fatores que colocam em risco a produtividade da cultura do tomateiro, destacam-se as injúrias causadas por doenças fúngicas e/ou bactericidas, que inviabilizam o seu escoamento e trazem prejuízos significativos ao produtor (BOTELHO et al., 2016). Dentre as doenças fúngicas foliares se tem destaque *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici*.

Nesse contexto, existe ampla quantidade de produtos desenvolvidos a partir de fontes naturais, que são vendidos hoje no mercado de preparados de plantas medicinais e apresentam alto potencial para controlar doenças em plantas (MELO et al., 2017). Muitos desses produtos

agem ativando os mecanismos de resistência dos vegetais, gerando com isso, uma cascata de sinalização que culminam com a ativação dos genes de defesa da planta hospedeira. Trata-se de um fenômeno natural de resposta vegetal frente ao ataque do patógeno, que é ativado, tão logo haja interação hospedeiro e agente patogênico (ABKHOO; SABBAGH, 2016).

Além disso, devido ao uso indiscriminado de produtos químicos sintéticos no controle de doenças na cultura do tomateiro, se faz necessário o investimento em produtos naturais por serem pouco ou nada tóxicos ao homem, animais e ambiente, melhorarem características fisiológicas dos vegetais e ainda apresentarem, algumas vezes, a capacidade de ativação dos mecanismos de defesa das plantas ou partes de plantas tratadas (RIBEIRO et al, 2016).

Trabalhos que utilizam preparados vegetais na proteção de plantas contra moléstias, com destaque para os extratos, mostram seu potencial no controle de fitopatógenos, por sua ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, e pela capacidade de induzir o acúmulo de fitoalexinas (SANTOS et al., 2014). Além dos extratos outras formas de preparados também vem ganhando destaque na sanidade vegetal, tais como os macerados e fermentados vegetais, que apesar dos resultados promissores, ainda se encontram escassas informações sobre o uso (TRIACA et al., 2018).

O fracionamento dos metabólitos secundários presentes nos extratos, bem como a determinação da atividade biológica dessas moléculas com respeito a atividade elicitora ou antimicrobiana, poderá contribuir para a aquisição de maiores conhecimentos que reforcem sua possível utilização como método alternativo de controle de doenças de plantas (MATIELLO; BONALDO, 2013). Os indutores de resistência não atuam do mesmo modo que os agroquímicos convencionais, pois apresentam baixa toxicidade ao organismo alvo e ativam mecanismos de defesa latentes nas plantas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2014).

As fitoalexinas são fatores bioquímicos, pós-formados, de resistência dos vegetais, ausentes ou presentes no hospedeiro em níveis baixos antes da infecção e estão altamente relacionadas às respostas de defesa citadas. A síntese de fitoalexinas pode ser induzida tanto por eliciadores bióticos quanto abióticos e o grau de expressão dessas moléculas nas plantas está fortemente relacionado com o agente indutor utilizado (RIBEIRO et al., 2016). O modo de ação sobre fungos inclui a granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas, refletindo na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo e redução ou inibição do crescimento micelial. As fitoalexinas possuem grande diversidade, sendo que mais de 300 tipos já foram caracterizados entre diferentes classes de compostos químicos, como cumarinas, diterpenos, flavonóides e dioxiantocianidinas (MAZARO et al., 2013).

Em soja, a fitoalexina gliceolina mostra-se importante na interação dessa leguminosa com fitopatógenos. Em sorgo são produzidos compostos fenólicos em resposta à inoculação ou não com fungos patogênicos. A utilização de cotilédones de soja e mesocótilos estiolados de sorgo mostram-se como excelente ferramenta para estudos envolvendo ação elicitora de moléculas de origem biótica e abiótica (MATIELLO et al., 2016).

Nesse contexto, o objetivo do presente capítulo foi de avaliar o potencial de macerados e fermentados vegetais na inibição do crescimento micelial e na germinação de esporos de *Alternaria solani* e *Septoria lycopersici* e verificar sua capacidade de indução de fitoalexinas em sementes de soja, feijão e sorgo.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

A atividade antifúngica *in vitro* dos preparados sobre os agentes causadores de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici* e as análises bioquímicas de fitoalexinas em sementes de soja, feijão e sorgo, foram conduzidas no laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal da Fronteira Sul

– Campus Laranjeiras do Sul – PR.

### 2.1 OBTENÇÃO DAS PLANTAS BIOATIVAS PREPARADOS VEGETAIS

As plantas bioativas utilizadas nos experimentos (Quadro 1) foram coletadas em propriedades rurais do município de Laranjeiras do Sul no período da manhã (07:00 as 09:00) que segundo Triaca et al. (2018) é o melhor horário para coleta de plantas frescas. Não foram coletadas plantas doentes, ou com sintomas e/ou sinais de patógenos ou de ataque de pragas. Em seguida, foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e levadas para o Laboratório de Fitopatologia.

Em seguida esse material vegetal foi seco em estufa a 36°C por 72 h e triturado em moinho de facas do tipo Willey, para posterior formulação dos preparados. Foi denominado macerado o produto final da utilização de 150g do material vegetal seco e triturado que permaneceu por um período de 24 horas em 1,5L de água destilada, em seguida filtrado em gaze e papel de filtro para posterior utilização nos experimentos na concentração de 10%. Já à denominação de fermentado se deu do produto final produzido pela junção de 1,5 L de água e 150 g do material vegetal seco e triturado. A fermentação ocorreu de maneira espontânea e aeróbica, mantendo-se o material no escuro por dez dias, passando por agitação (por 1 min) uma vez ao dia para que ocorresse a fermentação aeróbica (TRIACA, et al., 2018), foi verificado fermentação visual com formação de bolhas, mudança de cor e odor. Em seguida o material foi

filtrado em gaze e papel de filtro e preparada a concentração de 10% para utilização posterior nos experimentos. Para diluição foi utilizada água destilada.

Quadro1: Plantas bioativas utilizadas nos experimentos.

NOME COMUM	NOME CIENTÍFICO	PARTE UTILIZADA
Canela-Preta	<i>Ocotea catharinensis</i> Mez	Folhas
Erva-Mate	<i>Ilex paraquariensis</i> st. Hil	Folhas
Eucalipto	<i>Corymbia citriodora</i> (Hook)	Folhas
Fumo-Bravo	<i>Solanum mauritianum</i> Scop	Folhas
Limão-Cravo	<i>Citrus limonia</i> Osbeck	Folhas
Língua-de-Vaca	<i>Rumex obtusifolius</i> (Bitter Dock)	Folhas
Mamona	<i>Ricinus communis</i> L	Folhas
Nêspera	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl	Folhas
Pinus	<i>Pinus elliottii</i> Engelm	Acículas
Samambaia	<i>Pteridium arachnoideum</i> (Kaulf.) Maxon	Folhas

## 2.2 OBTENÇÃO DE *Septoria lycopersici* e *Alternaria linariae*

A atividade antifúngica dos preparados vegetais foi avaliada sobre dois dos principais fungos fitopatogênicos do tomateiro: *Septoria lycopersici* e *Alternaria linariae*, agentes causais da septoriose e da pinta preta, respetivamente. O isolamento de *S. lycopersici* e *A. linariae* foi realizado a partir de folhas sintomáticas de cultivo de tomateiro instalado no município de Laranjeiras do Sul - PR. Posteriormente, foram cultivados em placas de Petri com meio de cultura sólido de batata dextrose-ágar (BDA) e incubados a 25°C, em fotoperíodo de 12 h.

## 2.3 AVALIAÇÃO *in vitro* DO EFEITO ANTIFÚNGICO DOS PREPARADOS VEGETAIS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE *Alternaria linariae* E *Septoria lycopersici*

Os macerados e fermentados das 10 plantas bioativas foram incorporados na concentração de 10% em meio BDA (batata-dextrose-ágar), e autoclavado a 121° C por 20 min. Posteriormente foram vertidos em placas de Petri de 9 cm de diâmetro. Após a solidificação do meio, foram adicionados separadamente discos de 5 mm colonizados com os fungos *Septoria lycopersici* e *Alternaria linariae* no centro de cada placa. As placas foram incubadas em fotoperíodo de 12 h, à temperatura de 25° C. Foram realizadas medições no sétimo dia de incubação do diâmetro das colônias (média de duas medidas perpendiculares). Constituiu tratamento testemunha placas contendo apenas meio BDA.

## 2.4 AVALIAÇÃO *in vitro* DO EFEITO ANTIFÚNGICO DOS PREPARADOS VEGETAIS SOBRE A GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE *Alternaria linariae* E *Septoria lycopersici*

Para obter a suspensão de esporos de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici*, foram coletadas folhas de tomateiro com a sintomatologia de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici*. Estas foram imersas em 20 mL de água destilada e agitadas por dois minutos. Em seguida foi realizada a filtração com gaze fina e em seguida a concentração ajustada para  $1 \times 10^4$  esporos/ml com auxílio de câmara de Newbauer.

O teste foi realizado em placa de Elisa, sendo adicionado 35µl de suspensão de esporos e 35µl de cada tratamento em cada célula da placa. Essas foram vedadas com filme de PVC e mantidas em BOD por 20 horas à 25°C, em escuro. A testemunha recebeu apenas a suspensão de esporos e água destilada em cada célula da placa. A paralisação da germinação dos esporos foi realizada após 20h de incubação, utilizando - se 10µl do corante azul algodão de lactofenol para cada parcela. Para cada repetição foram contabilizados 100 esporos em microscópio óptico para determinação da porcentagem de esporos germinados (com emissão de tubos germinativos).

## 2.5 AVALIAÇÃO DOS PREPARADOS VEGETAIS SOBRE A INDUÇÃO DE FITOALEXINAS

Para avaliar o efeito dos preparados vegetais na indução de fitoalexinas, foram realizados bioensaios de fitoalexinas em cotilédones de soja, hipocótilos de feijoeiro e mesocótilos de sorgo. Esses bioensaios em diferentes culturas representam um importante indicador do potencial efeito de agentes bióticos ou abióticos em ativar mecanismos de defesa em plantas. Foram avaliados os macerados e fermentados das dez plantas bioativas conforme descritas no Quadro 1.

Para determinação de fitoalexina em mesocótilos de sorgo, as sementes de sorgo (*Sorghum bicolor* (L.) Moench), cultivar Brandes, foram desinfestadas em hipoclorito de sódio 1% durante 15 min e posteriormente lavadas em água destilada e, embebidas em água sob temperatura ambiente por 6 h. Após esse período foram enroladas em folhas de papel de germinação umedecidas e incubadas em escuro à 28°C durante seis dias. As plântulas desenvolvidas foram expostas sob luz fluorescente por 4 h tendo em vista paralisar a elongação dos mesocótilos. Para determinação da produção de fitoalexinas, os mesocótilos foram excisados 0,5 cm acima do nó escutelar e colocados em tubos para microcentrífuga (volume de 1,5 ml) (três mesocótilos/tubo), contendo uma alíquota de 1,4 ml de cada tratamento e, após mantidos em câmara úmida, a 25°C sob luz fluorescente durante 60 h. Após este período foram retirados dos tubos, secos em papel absorvente e os 5 mm basais de cada mesocótilo após excisados foram

descartados. A porção superior (2,5 cm) após pesada, cortada em pequenos segmentos foi acondicionada em tubos para microcentrífuga contendo 1,5 ml de metanol 80% acidificado (0,1% HCl; v/v) e mantidos no metanol por 96 h na temperatura de 4°C para extração dos pigmentos. Em seguida foi determinada a absorbância a 480 nm (NICHOLSON et al., 1988).

Para determinação de fitoalexina em cotilédones de soja, inicialmente sementes de soja (*Glycine max* L. (Merril)) de cultivar BRS 134 foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 1% por 5 minutos. Em seguida, foram lavadas em água destilada estéril, semeadas em areia esterilizada por autoclavagem e mantidas por nove dias em escuro. Após esse período, os cotilédones foram destacados das plântulas, lavados em água destilada, enxugados e cortados em secção aproximada de 1 mm de espessura e 6 mm de diâmetro a partir da superfície inferior. Cinco cotilédones foram colocados em placa de Petri com papel de filtro umedecido com água destilada estéril. Sobre cada cotilédone foi aplicada uma alíquota de 40 µ de cada tratamentos. As placas foram mantidas a 25°C e em escuro por 20 h, e em seguida, os cotilédones foram transferidos para frascos de filme fotográfico contendo 15 ml de água destilada estéril e deixados em agitação por 1 h para extração da fitoalexina formada. A absorbância foi determinada a 285 nm (ZIEGLER, PONTZEN, 1982).

A determinação da faseolina em hipocótilos de feijoeiro foi realizada conforme a metodologia proposta por Dixon et al. (1983), com algumas modificações. Inicialmente sementes de feijão variedade IPR-Colibri foram desinfestadas em solução de hipoclorito de sódio 1% por 5 minutos. Em seguida, foram lavadas em água destilada estéril, semeadas em areia esterilizada por autoclavagem e mantidas em câmara climatizada a 24°C em escuro por nove dias. Após esse período, foram cortados 5 cm dos segmentos de hipocótilos estiolados das plântulas, lavados em água estéril e mantidos sobre papel absorvente por 30 minutos. Em seguida quatro segmentos de hipocótilo foram transferidos para placas de Petri contendo papel filtro umedecido com água destilada estéril. Sobre os hipocótilos, foram pulverizados os tratamentos. As placas de Petri foram mantidas a 25°C em escuro por 48 h. Após esse período os hipocótilos foram transferidos para tubos de ensaio contendo 10 ml de etanol, sendo estes mantidos a 4°C por 48 h para a extração da fitoalexina formada, sendo então agitados por uma hora. O teor de faseolina formada foi determinada em espectrofotômetro a 280 nm.

## 2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Todos os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Para análise estatística dos resultados obtidos, estes foram submetidos

inicialmente a testes de normalidade e homogeneidade, sendo transformados quando necessário. Os resultados foram submetidos a análise de variância e teste de médias de Tukey a 5% de probabilidade. Análises foram realizadas com auxílio do programa computacional Sisvar (FERREIRA, 2007).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 AVALIAÇÃO *in vitro* DO EFEITO ANTIFÚNGICO DOS PREPARADOS VEGETAIS SOBRE O CRESCIMENTO MICELIAL DE *Alternaria linariae* E *Septoria lycopersici*

Para o crescimento micelial de *Alternaria linariae* os tratamentos fermentado e macerado de *Ilex paraguariensis* e o macerado e o fermentado de *Solanum mauritianum* apresentaram inibições de 62,1%, 44,8%, 34,5% e 31% respectivamente em relação a testemunha. Já para crescimento micelial de *Septoria lycopersici* as inibições foram de 65%, 38,3%, 35% e 42% respectivamente em relação à testemunha (Tabela 3). Isto indica o potencial antifúngico das duas espécies, já que reduziram significativamente o crescimento micelial dos fungos em estudo, com destaque para o fermentado vegetal de erva-mate. Os tratamentos macerado de *Eriobothrya japonica*, fermentado e macerado de *Pteridium arachnoideum*, *Ocotea catharinensis*, *Ricinus communis*, *Pinus elliotti* e *Corymbia citriodora* não se diferenciam do tratamento testemunha no crescimento micelial de *S.lycopersici*. Os tratamentos macerado de *Eriobothrya japonica*, *Pteridium arachnoideum*, *Ocotea catharinensis*, *Corymbia citriodora*, e *Ricinus communis*, fermentado de *Ocotea catharinensis*, *Corymbia citriodora*, *Ricinus communis* e *Pinus elliotti*, não se diferenciaram do tratamento testemunha, para o crescimento de *Alternaria linariae*.

Tabela 3: Crescimento Micelial (cm) de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici* após sete dias de incubação em meio de cultura BDA contendo macerado e fermentado de diferentes espécies vegetais.

Tratamentos	Crescimento <i>S. lycopersici</i> (cm)		Crescimento <i>A. linariae</i> (cm)	
	Macerado	Fermentado	Macerado	Fermentado
<i>Ilex paraguariensis</i>	4,0 ± 0,00 aB-	2,7 ± 0,25 aA-	4,5 ± 0,00 aB-	2,5 ± 0,35 aA-
<i>Solanum mauritianum</i>	5,0 ± 0,00 abA-	4,8 ± 0,00 bA-	4,2 ± 0,00 aA-	4,7 ± 0,70 bA-
<i>Eriobotrya japonica</i>	7,1 ± 0,01 bcA	5,0 ± 0,35 bcA-	7,0 ± 0,00 bcB	4,5 ± 1,41 bA-
<i>Rumex obtusifolius</i>	6,3 ± 0,00 bA-	6,3 ± 0,00 cdA-	6,5 ± 0,71 bA-	6,2 ± 0,36 cA-
<i>Citrus limonia</i>	6,4 ± 0,00 bcA-	6,4 ± 0,35 cdA-	6,4 ± 0,35 bA-	6,5 ± 1,41 cA-
<i>Pteridium arachnoideum</i>	7,0 ± 0,00 bcA	6,5 ± 0,00 cdA-	7,0 ± 0,36 bcA	6,5 ± 0,00 cA-
<i>Ricinus communis</i>	7,1 ± 0,35 bcA	6,6 ± 0,71 cdA	7,0 ± 0,71 bcA	7,0 ± 0,71 cdA
<i>Ocotea catharinensis</i>	6,9 ± 0,01 bcA	7,0 ± 0,00 cdA	7,0 ± 0,54 bcA	7,0 ± 0,00 cdA
<i>Corymbia citriodora</i>	7,0 ± 0,36 bcA	7,0 ± 0,35 cdA	7,0 ± 0,00 bcA	7,0 ± 0,00 cdA
<i>Pinus elliottii</i>	6,4 ± 0,00 bcA-	7,0 ± 0,00 cdA	7,0 ± 0,00 bcA	7,0 ± 0,00 cdA
<b>Testemunha</b>	7,2 ± 0,36		7,3 ± 0,36	
<b>CV%</b>	4,5		4,5	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. - inferior a testemunha.

O fermentado de *Ilex paraguariensis*, foi o tratamento que apresentou os menores crescimentos miceliais para os dois agentes patogênicos em estudo (Figura 1 e 2), demonstrando para este ensaio a superioridade do fermentado botânico e da espécie *Ilex paraguariensis*, sobre os demais tratamentos.

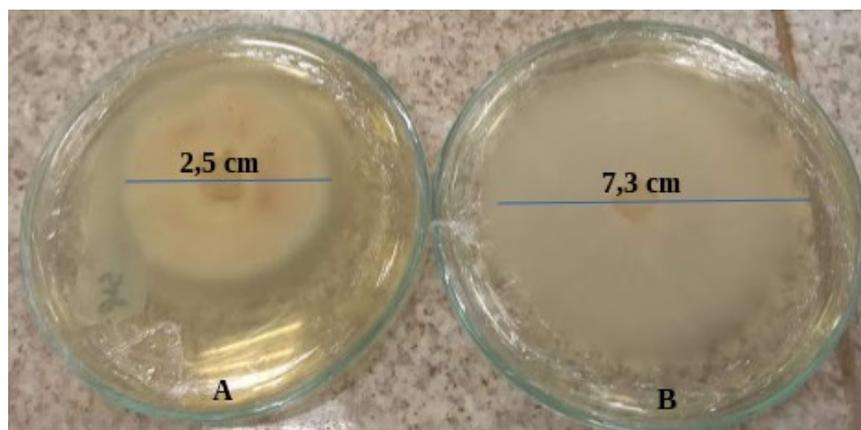


Figura 1: Crescimento Micelial de *Alternaria linariae* em meio de cultivo BDA+ Fermentado de *Ilex paraguariensis* na concentração 10% (A) e crescimento micelial de *Alternaria linariae* em meio de cultivo BDA (B) após sete dias de incubação.

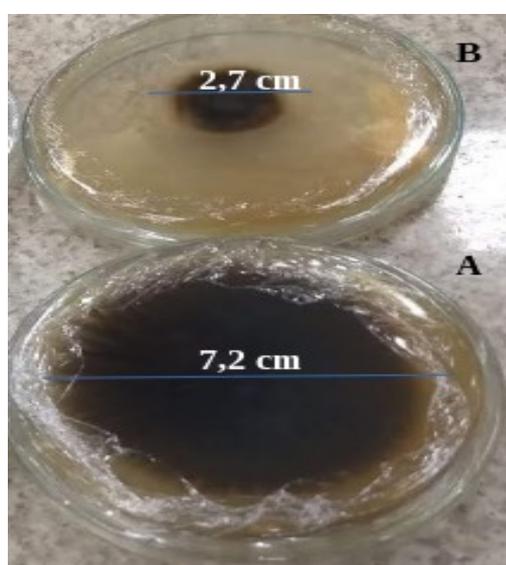


Figura 2: Crescimento micelial de *Septoria lycopersici* em meio de cultivo BDA (A) após sete dias de incubação e Crescimento Micelial de *Septoria lycopersici* em meio de cultivo BDA+ Fermentado de *Ilex paraguariensis* na concentração 10% (B)

Resultados semelhantes foram encontrados por Triaca et al. (2018), que utilizaram fermentado de *Ilex paraguariensis* no controle de *Sclerotinia sclerotiorum*, obtendo resultados satisfatórios. Nos testes *in vitro* observando o micélio do fungo *S. sclerotiorum* após 14 dias de incubação os autores verificaram que o mesmo não apresentava crescimento, posteriormente foi feita uma contraprova, retirando o anel inoculado a fim de verificar se o mesmo apenas inibia o crescimento do fungo ou tinha ação fungistática. O anel foi inoculado novamente em meio de cultivo nutriente (BDA) e após 14 dias o mesmo não tinha se desenvolvido, confirmando então que a ação do fermentado realmente levou a supressão do fungo.

Devido aos resultados do ensaio, acredita-se que *Ilex paraguariensis* além de ser uma cultura há muitos anos utilizada como geradora de renda no estado do Paraná, e no município de Laranjeiras do Sul, pode vir a ser uma rica contribuição na elaboração de um produto viável no tratamentos de fitopatógenos, já que sua utilização é permitida devido o fácil acesso a cultura e a disponibilidade na região.

Além de *Ilex paraguariensis*, *Solanum mauritianum* também mostrou-se eficiente no controle *in vitro* dos fungos *A. linariae* e *S. lycopersici*. Outros trabalhos também demonstram a efetividade do fermentado da espécie no controle de doenças. Minello et al. (2018), observaram que durante os 14 dias de experimento, o fermentado a base de *Solanum mauritianum* apresentou 100% de inibição do fitopatógeno *B. cinerea*, nas concentrações 20 e 40%. Telaxka et al (2018), utilizando biofermentados de *Solanum mauritianum*, encontrou resultados promissores do uso no efeito antimicrobiano direto sobre a *X. axonopodis* pv. *phaseoli*. O autor observou que com o avanço do tempo de fermentação, ocorreu maior efeito inibitório sobre a bactéria.

Estes resultados corroboram com os resultados obtidos por Nascimento et al. (2014), onde observaram inibição de 100% do crescimento micelial de *S. sclerotiorum* avaliado ao 14º dia, com a utilização de fermentados de *Solanum mauritanum*, na concentração de 20% e, submetidos à fermentação por 15 dias. Esses resultados corroboram com os do presente ensaio e indicam que a espécie pode ser uma alternativa de baixo custo e fácil manuseio, no controle de muitas doenças causadas por fungos e bactérias na produção agrícola.

Além dos fermentados e macerados, os extratos aquosos e óleos essenciais de espécies bioativas merecem destaque. Resultados obtidos por Santos Neto et al (2016), quanto a inibição do crescimento micelial de *Alternaria solani* e *Septoria lycopersici*, utilizando extrato aquoso, óleo essencial e citral provenientes do capim-limão (*Cymbopogon citratus*), sendo que o óleo essencial e o citral na maior concentração testada de 400  $\mu\text{L}/\text{L}^{-1}$  proporcionaram 100% de inibição, demonstrando potencial alternativa para manejo fitossanitário da cultura do tomate.

Sadana e Didwania (2015) estudaram a bioeficácia de quinze espécies vegetais (*Polyalthia longifolia*, *Azadirachta indica*, *Datura stramonium*, *Ocimum sanctum*, *Calotropis procera*, *Crotalaria juncea*, *Eucalyptus obliqua*, *Cassia fistula*, *Agele marmelos*, *Croton bonplonadium*, *Pergularia daemia*, *Cleome viscosa*, *Phyllanthus amarus*, *Bauhinia purpurea*, *Euphorbia hirta*), *in vitro* sob *Alternaria solani*. Os autores observaram que o extrato aquoso bruto de *Eucalyptus obliqua* a 15%, foi o mais eficiente, inibiu em 88% o crescimento micelial do fungo. As espécies *Datura stamonium*, *Azadirachta indica*, *Calotropis procera* e *Polyalthia longifolia* inibiram o crescimento micelial em 82,5%, 73,7%, 79% e 76,7%, respectivamente.

### 3.2 AVALIAÇÃO *in vitro* DO EFEITO ANTIFÚNGICO DOS PREPARADOS VEGETAIS SOBRE A GERMINAÇÃO DE ESPOROS DE *Alternaria linariae* E *Septoria lycopersici*

Para o ensaio de germinação de esporos de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici* (Tabela 4) destacam-se as plantas bioativas *Ilex paraguariensis* e *solanum Mauritianum*, dando destaque para os fermentados botânicos. Os tratamentos fermentado de *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum* reduziram em 74,22 e 63,91% a germinação de esporos de *S. lycopersici* e 35 e 43,29% a germinação de esporos de *A. solani* respectivamente em relação a testemunha. De acordo com os resultados obtidos na tabela 5, observa-se que todos os tratamentos diferenciaram-se do tratamento testemunha para *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici*, indicando a potencialidade de espécies bioativas na sanidade vegetal.

Tabela 4: Porcentagem de Germinação de Esporos de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici* após sete dias de incubação em meio de cultura BDA contendo macerado e fermentado de diferentes espécies vegetais.

Tratamentos	Germinação de Esporos <i>S. lycopersici</i> (%)		Germinação de Esporos <i>A. linariae</i> (%)	
	Macerado	Fermentado	Macerado	Fermentado
<i>Ilex paraguariensis</i>	52 ± 0,70 aA-	25 ± 0,35 aB-	55 ± 0,00 aA-	63 ± 0,70 aB-
<i>Solanum mauritianum</i>	50 ± 0,00 bA-	35 ± 0,35 bB-	62 ± 0,00 bA-	55 ± 0,70 bB-
<i>Eriobothrya japonica</i>	90 ± 0,00 eA-	75 ± 0,00 cB-	90 ± 0,00 eA-	80 ± 1,41 dB-
<i>Rumex obtusifolius</i>	90 ± 0,00 eA-	77 ± 0,00 dB-	90 ± 0,70 eA-	80 ± 0,33 dB-
<i>Citrus limonia</i>	77 ± 0,00 dA-	75 ± 0,35 cB-	85 ± 0,35 dA-	65 ± 1,41 cB-
<i>Pteridium arachnoideum</i>	52 ± 0,35 aA-	75 ± 0,00 cB-	67 ± 0,35 cA-	65 ± 0,00 cB-
<i>Ricinus communis</i>	90 ± 0,00 eA-	75 ± 0,00 cB-	90 ± 0,00 eA-	65 ± 0,00 cB-
<i>Ocotea catharinensis</i>	90 ± 0,00 eA-	90 ± 0,00 eA-	85 ± 0,53 dA-	85 ± 0,00 dA-
<i>Corymbia citriodora</i>	90 ± 0,00 eA-	75 ± 0,35 cB-	90 ± 0,00 eA-	65 ± 0,00 cB-
<i>Pinus elliotti</i>	75 ± 0,53 cA-	75 ± 0,35 cA-	85 ± 0,00 dA-	85 ± 0,70 dA-
<b>Testemunha</b>		97 ± 0, 53		97 ± 0,53
<b>CV%</b>		0,58		0,41

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. - inferior a testemunha.

A eficiência do fermentado botânico pode ser explicada devido os microrganismos presentes do fermentado, além do tempo de fermentação, faz com que ocorra uma série de transformações químicas e biológicas que melhoram a qualidade do produto final. Além disso, a fermentação quebra as moléculas maiores em moléculas menores que são de mais fácil absorção e assimilação o que pode ter ocasionado a maior redução da germinação de esporos pelos fermentados das plantas bioativas (TRIACA et al., 2018)

Na literatura são poucas as informações encontradas acerca do uso de fermentados botânicos no controle de fitopatógenos e na proteção de plantas, além disso, também são escassas as informações sobre o uso de macerados das espécies estudadas nesse trabalho. Porém, o efeito de redução da germinação de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici* por fermentados e macerados botânicos, pode ser explicado pela presença de substâncias antifúngicas e fungitóxicas ainda desconhecidas, presentes nesses preparados, ou pela inibição da germinação de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici*.

Em geral, os trabalhos que estudam ação antimicrobiana de preparados botânicos são feitos empregando-se espécies conhecidas baseados principalmente em plantas medicinais, apresentando grande quantidade de relatos que comprovam sua eficácia na medicina humana. No presente trabalho as espécies que apresentaram superioridade na inibição tanto da germinação de esporos quanto no crescimento micelial, possuem pouca ou nenhuma utilização desse tipo. Tal fato mostra quão amplo pode ser este campo de pesquisa e quanto ainda existe por ser feito. Diversas espécies vegetais podem apresentar potencial como fontes alternativas de substâncias com ação fungicida e o seu estudo poderá contribuir para a redução dos problemas hoje existentes no controle químico de doenças fúngicas na cultura do tomateiro. É evidente que outros estudos devem ser realizados visando avaliar, também, o potencial toxicológico dessas substâncias ao homem e ao ambiente antes de serem empregadas em larga escala (DOMINGUES et al., 2009).

Singh e Srivastava (2013), destacam a presença de compostos antifúngicos em plantas superiores como fonte de bio-pesticida vegetal para o controle de doenças em plantas. Através do uso desses produtos vegetais, pode haver uma diminuição no uso de pesticidas químicos que têm um efeito indesejável na cadeia alimentar dos organismos presentes no ambiente e nos seres humanos. Além disso, os biopesticidas de planta são baratos, disponíveis localmente, não tóxicos, e são facilmente degradáveis (JANTASORN et al., 2016).

O grande desafio da agricultura sustentável é buscar novas substâncias bioativas não nocivas ao ambiente e que possam atacar diretamente esses patógenos que ao longo do tempo e do uso indiscriminado de agrotóxicos se tornaram resistentes a muitas substâncias. Os

fermentados botânicos vem tornando-se uma alternativa viável ao uso de compostos sintéticos para que haja valorização da saúde e bem estar do consumidor e do ambiente (ALMEIDA et al., 2017).

### 3.3 AVALIAÇÃO DOS PREPARADOS VEGETAIS NA INDUÇÃO DE FITOALEXINA

Os tratamentos que mais induziram faseolina em hipocótilos de feijoeiro (Tabela 5) foram os tratamentos fermentado de *Solanum mauritianum*, seguido de macerados de *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum* e fermentado de *Ilex paraguariensis*, com induções de 81,25, 80, 80 e 78,57% respectivamente em relação a testemunha.

Tabela 5: Produção de faseolina em hipocótilos de feijoeiro submetidos aos tratamentos com preparados vegetais. Resultados expressos em absorbância de 280 nm por grama de massa fresca.

Tratamentos	Indução de Faseolina	
	Macerado	Fermentado
<i>Ilex paraguariensis</i>	0,15 ± 0,003 aA +	0,14 ± 0,002 aA +
<i>Solanum mauritianum</i>	0,15 ± 0,005 aA +	0,16 ± 0,001 aA +
<i>Eriobotrya japonica</i>	0,05 ± 0, 005 bA +	0,07 ± 0,005 bA +
<i>Rumex obtusifolius</i>	0,05 ± 0,004 bA +	0,09 ± 0,005 dB +
<i>Citrus limonia</i>	0,09 ± 0,004 cA +	0,09 ± 0,005 dA +
<i>Pteridium arachnoideum</i>	0,09 ± 0,003 cA +	0,09 ± 0,007 dA +
<i>Ricinus communis</i>	0,09 ± 0, 003 cA +	0,09 ± 0,007 dA +
<i>Ocotea catharinensis</i>	0,05 ± 0,003 bA +	0,07 ± 0,007 bA +
<i>Corymbia citriodora</i>	0,07 ± 0, 003 bcA +	0,07 ± 0,003 bA +
<i>Pinus elliottii</i>	0,05 ± 0,005 bA +	0,04 ± 0,003 cbA +
<b>Testemunha</b>	0,03 ± 0, 005	
<b>CV%</b>	0,89	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. + superior a testemunha.

Oliveira et al., (2011) obtiveram como resultados do seu trabalho o potencial elicitor de *Corymbia citriodora* em hipocótilos de feijão. Houve um aumento médio de 28,62% na produção de faseolina nas plantas tratadas na concentração de 1% diferindo significativamente do controle. De forma geral, o modo de ação das fitoalexinas sobre fungos inclui granulação citoplasmática, desorganização dos conteúdos celulares, ruptura da membrana plasmática e inibição de enzimas fúngicas. Esses efeitos refletem-se na inibição da germinação e alongação do tubo germinativo e redução ou inibição do crescimento micelial (PIRES, 2015).

Para o ensaio em mesocótilos de sorgo (Tabela 6), os tratamentos que induziram maior produção de fitoalexinas (gliceolina) foram os fermentados de *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis* seguidos dos macerados de *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum*, com induções de 66,66, 65, 56,25 e 53,33% respectivamente em relação a testemunha.

Tabela 6: Produção de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo submetidos aos tratamentos com preparados vegetais. Resultados expressos em absorvância a 480 nm por grama de massa fresca.

Tratamentos	Indução de Gliceolina	
	Macerado	Fermentado
<i>Ilex paraguariensis</i>	0,32 ± 0,003 aA +	0,40 ± 0,002 aB +
<i>Solanum mauritianum</i>	0,30 ± 0,005 aA +	0,42 ± 0,001 aB +
<i>Eriobotrya japonica</i>	0,25 ± 0,005 bA +	0,32 ± 0,005 bB +
<i>Rumex obtusifolius</i>	0,26 ± 0,004 bA +	0,32 ± 0,002 bB +
<i>Citrus limonia</i>	0,20 ± 0,004 cA +	0,19 ± 0,006 cA +
<i>Pteridium arachnoideum</i>	0,26 ± 0,002 bA +	0,19 ± 0,002 cB +
<i>Ricinus communis</i>	0,21 ± 0,001 cA +	0,32 ± 0,001 bB +
<i>Ocotea catharinensis</i>	0,26 ± 0,007 bA +	0,24 ± 0,002 cA +
<i>Corymbia citriodora</i>	0,26 ± 0,003 bA +	0,32 ± 0,001 bB +
<i>Pinus elliottii</i>	0,26 ± 0,001 bA +	0,32 ± 0,003 bB +
Testemunha	0,14 ± 0,004	
CV%	2	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. + superior a testemunha.

A indução de resistência por meio de fitoalexinas está entre os mecanismos de defesa mais eficientes, devido à ocorrência de morte de células da planta próximas ao local de infecção (MAZARO et al., 2013). Embora eficiente, os estudos envolvendo a indução de resistência em plantas são escassos, e no caso de plantas bioativas são praticamente inexistentes, a maioria dos trabalhos se concentram nas plantas medicinais, aromáticas e condimentares.

Porém, se sabe que as evidências do papel das fitoalexinas na resistência a doenças de plantas incluem: acúmulo destas substâncias em resposta ao desenvolvimento do patógeno, correlação positiva da velocidade de produção de fitoalexinas na presença do patógeno, associação do rápido acúmulo de fitoalexinas com genes de resistência que restringem o desenvolvimento do patógeno e aumento na resistência do tecido da planta pelo estímulo na produção de fitoalexinas antes da inoculação (BRAND et al., 2010).

Em cotilédones de soja a fitoalexina gliceolina (Tabela 7), foi induzida pelos tratamentos a base dos fermentados de *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis* seguidos pelos macerados de *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum*, em 34, 30, 26,19 e 24,39% respectivamente em

comparação com a testemunha. Não se diferenciaram da testemunha os macerados de *Citrus limonia*, e *Pinus elliotti*.

Tabela 7: Produção de gliceolina em cotilédones de soja submetidos aos tratamentos com preparados vegetais. Resultados expressos absorvância a 285 nm por grama de massa fresca.

Tratamentos	Indução de Gliceolina	
	Macerado	Fermentado
<i>Ilex paraguariensis</i>	0,42 ± 0,004 aA +	0,47 ± 0,001 aB +
<i>Solanum mauritianum</i>	0,41 ± 0,001 aA +	0,44 ± 0,001 bB +
<i>Eriobotrya japonica</i>	0,35 ± 0,005 bA +	0,36 ± 0,001 cA +
<i>Rumex obtusifolius</i>	0,34 ± 0,002 bA +	0,39 ± 0,002 dB +
<i>Citrus limonia</i>	0,31 ± 0,002 cA	0,39 ± 0,002 dB +
<i>Pteridium arachnoideum</i>	0,35 ± 0,001 bA +	0,36 ± 0,003 cA +
<i>Ricinus communis</i>	0,34 ± 0,002 bA +	0,40 ± 0,001 dB +
<i>Ocotea catharinensis</i>	0,38 ± 0,007 dA +	0,37 ± 0,002 cA +
<i>Corymbia citriodora</i>	0,38 ± 0,003 dA +	0,39 ± 0,001 dB +
<i>Pinus elliottii</i>	0,32 ± 0,003 cA	0,37 ± 0,01 cA +
Testemunha	0,31 ± 0,004	
CV%	1,5	

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. + superior a testemunha.

Outros estudos relatam o potencial indutor de fitoalexinas por outros produtos naturais, como derivados de plantas medicinais e cogumelos. Arruda et al. (2012) verificaram o acúmulo de fitoalexinas em hipocótilos de soja pela utilização de 33 extratos aquosos dos cogumelos *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* e *Pycnoporus sanguineus*. Mazaro et al. (2008) encontraram resultado positivo na indução de fitoalexinas em soja através de extratos aquosos de pitangueira. Matiello e Bonaldo (2013) relataram que extratos brutos das plantas medicinais Arruda (*Ruta graveolens*), Manjerona (*Origanum majorana*) e Carqueja (*Baccharis trimera*), são eficientes na indução de fitoalexinas em cotilédones de soja, enquanto que altas concentrações (15 a 50%) de extrato de carqueja e manjerona induzem o acúmulo de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo tratado.

Grande parte das pesquisas acerca dos métodos alternativos de controle de doenças em plantas, tem sido direcionada para os extratos e os óleos essenciais de plantas, sendo escassas as informações da atividade de outros preparados de plantas tais como os fermentados botânicos.

## CONCLUSÃO

As plantas bioativas *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis* apresentaram maiores inibições de germinação de esporos e de crescimento micelial de *Alternaria linariae* e *Septoria lycopersici*, com destaque para o fermentado de *Ilex paraguariensis*. Para a indução de fitoalexinas observou-se maior indução pelas espécies *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis*.

O uso de fermentados de *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis*, pode vir a ser uma ferramenta viável na proteção de plantas, pois além do seu efeito antifúngico, e da sua capacidade de induzir fitoalexinas, são de fácil acesso, uso e manuseio. Esse conjunto de fatores somado ao baixo custo, possibilita o desenvolvimento rural local, através da diminuição dos custos de produção e de um método de controle preventivo menos agressivo ao agricultor, meio ambiente e ao consumidor.

## REFERÊNCIAS

ABKHOO, J.; SABBAGH, S.K. Control of *Phytophthora melonis* damping-off, induction of defence responses, and gene expression of cucumber treated with commercial extract of *Ascophyllum nodosum*. **Journal of Applied Phycology**, v.28, n.2, p.1333-1342, 2016.

ALMEIDA, E. N.; et al. Potenciais alternativas com extratos vegetais no controle da pinta preta do tomateiro. **Revista Verde**, v.12, n.4. 2017.

ARRUDA, R.S.; et al. Efeito de extratos de cogumelos na indução de fitoalexinas e no controle de oídio da soja em casa de vegetação. **Bioscience Journal**, v. 28, n. 2, 2012.

BOTELHO, S. C. C.; et al. Qualidade pós-colheita de maracujá-amarelo em função de porta-enxertos e ambientes de cultivo. **Comunicata Scientiae**, v. 7, n.1, p. 504-512. 2016.

BRAND, S.C.; et al. Extratos de alho e alecrim na indução de faseolina em feijoeiro e fungitoxicidade sobre *Colletotrichum lindemuthianum*. **Ciência Rural**, v.40, n.9, p.1881-1887, 2010.

DIXON, R.A.; et al. Phytoalexin induction in French bean: intercellular transmission elicitation in cell suspension cultures and hypocotyls sections of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiology**, v.71, n.2, p.251-256, 1983.

DOMINGUES, R. J. Ação *in vitro* dos extratos vegetais sobre *Colletotrichum acutatum*, *Alternaria solani*, e *Sclerotium roslfii*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.76, n.4, p.643-649, 2009.

FERREIRA, D. F. SISVAR: **Sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.0**. Lavras: DEX/UFLA, 2007. CD-ROM. Software.

JANTASORN, A., et al. *In vitro* antifungal activity evaluation of five plant extracts against five plant pathogenic fungi causing rice and economic crop diseases. **Journal of Biopesticides**, v.9, n.1, p.1-7, 2016.

MATIELLO, J.; BONALDO, S. M. Atividade elicitora de fitoalexinas em soja e sorgo por extratos e tinturas de espécies medicinais. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 15, n. 4. 2013.

MAZARO, S.M.; et al. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de pitangueira. **Ciencia Rural**, v.38; n.7. 2008.

MELO, T. A.; et al. Produtos naturais disponíveis comercialmente induzem o acúmulo de fitoalexinas em cotilédones de soja e mesocótilos de sorgo. **Summa Phytopathologica**, v. 43, n. 3, p. 205-211, 2017.

MINELLO, L. et al. **Controle alternativo dos fungos *Fusarium oxysporum* f.sp *lycopersici* e *Botrytis cinerea* a partir de Fermentados de plantas**. Universidade Caixias do Sul. 2018. Acesso em 20 dez de 2018, disponível em <[https://www.uces.br/site/midia/arquivos/modelo\\_resumo\\_agric\\_sustentavel.pdf](https://www.uces.br/site/midia/arquivos/modelo_resumo_agric_sustentavel.pdf)>.

NASCIMENTO, M.; et al. **Avaliação antifúngica dos fitopatógenos do tomateiro *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* e *Sclerotinia sclerotiorum* com fermentados das plantas *Solanum mauritianum*, *Chrysanthemum anerhifolium* e *Struthanthus flexicaules***. XXII Encontro de Jovens pesquisadores: IV Mostra acadêmica de inovação e tecnologia, UCS, 2014. Acesso 20 de dezembro de 2018, disponível em: <[http://www.jovenspesquisadores.com.br/2014/restrito/uploads/posters/2014/Michele\\_do\\_Nascimento\\_1407177242.pdf](http://www.jovenspesquisadores.com.br/2014/restrito/uploads/posters/2014/Michele_do_Nascimento_1407177242.pdf)>.

NICHOLSON, R.L., et al. Phytoalexin synthesis in the juvenile sorghum leaf. **Physiological and Molecular Plant Pathology**. p.271-278. 1988.

OLIVEIRA, J. S. B.; et al. Indução de fitoalexinas em hipocótilos de feijoeiro por preparados homeopáticos de *Eucalyptus citriodora*. **Cadernos de Agroecologia**, v. 6, n.2, p. 2236-7934. 2011.

PIRES, A. F. Atividade anrifúngica de plantas medicinais sobre o desenvolvimento de *Fusarium verticillioides* em sementes de milho crioulo. **Trabalho de Conclusão de Curso**. Universidade Federal de Santa Catarina. Curtibanos. 40p. 2015.

RIBEIRO, G. J.; et al. Uso de produtos naturais no controle de antracnose causado por *Colletotrichum gloeosporioides* em mamão. **Summa Phytopathologica**, v. 42, n. 2, p. 160-164, 2016.

SADANA, D; DIDWANIA, N. Bioefficacy of Fungicides and Plant Extracts against *Alternaria solani* Causing Early Blight of Tomato. International **Conference on Plant, Marine and Environmental Sciences**, v.1, n.2, p.38-42, 2015.

SANTOS, C. S.; et al. Efeito do extrato de plantas do controle de fungos do tomateiro. **Fragmentos de Cultura**, v. 24, n. 1, p. 139-151. 2014.

SANTOS NETO, J.; et al. Subprodutos de capim-limão no controle de septoriose do tomateiro em sistema de produção orgânica. **Revista Brasileira de Agroecologia**. v.11, n.1, p.35-44, 2016.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; et al. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. VII ed. Maringá: Suprema Gráfica e Editora Ltda, v. 1, p. 55-72. 2014.

TELAXKA, F. J.; et al. Extrato aquoso e fermentado de fumo-bravo (*Solanum mauritianum* Scop) na proteção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) ao crestamento bacteriano comum. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v.8, n.3, p.81-90, 2018.

TRIACA, T.; et al. Avaliação *in vivo* do fermentado botânico de *Ilex paraguariensis* frente ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum* no cultivo de alface crespa. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**. v.11, n.1, p.51-58, 2018.

ZIEGLER, E., PONTZEN, R. Specific inhibition of glucanelicited glyceolin accumulation in soybeans by extracellular mannan-glycoprotein of *Phytophthora megasperma* f.sp. *glycinea*. **Physiological Plant Pathology**. v.20, n.3.p.321-331. 1982.

## **CAPÍTULO II: AVALIAÇÃO DE PREPARADOS BOTÂNICOS DE *Solanum mauritianum* Scop E *Ilex paraguariensis* st. Hill NO DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS FÚNGICAS FOLIARES, NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA, NO CRESCIMENTO E NA PRODUÇÃO DA CULTURA DO TOMATEIRO**

**RESUMO:** A cultura do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das principais hortaliças em volume consumida *in natura* no mundo. No entanto a cultura é comumente afetada por diversas doenças de difícil controle. Sendo assim, o objetivo do presente capítulo foi o de avaliar a eficiência de macerados e fermentados vegetais de fumo-bravo (*Solanum mauritianum* Scop) e erva-mate (*Ilex paraguariensis* st. Hil.) no desenvolvimento de doenças fúngicas foliares, na indução de resistência, no crescimento e na produção da cultura do tomateiro. As espécies vegetais bioativas utilizadas foram as duas que obtiveram maior eficiência nos testes preliminares *in vitro*. Para o experimento instalado em casa de vegetação, cada repetição se constituiu de dois vasos contendo uma planta. Em experimento à campo cada parcela foi constituída por seis plantas sendo a parcela útil composta por duas plantas centrais e o restante como bordadura. As pulverizações dos tratamentos foram realizadas aos 15, 30 45, 60 e 75 dias após o transplântio, na concentração de 10%. As avaliações da incidência de doenças foliares fúngicas foram realizadas a partir da primeira aplicação dos tratamentos, em intervalos de 15 dias. Foi determinada a atividade de peroxidases, polifenoloxidades e fenilalanina amônia-liase. Também foram avaliados aspectos de crescimento e produção. Os experimentos foram conduzidos em blocos ao acaso com cinco repetições. Os resultados foram submetidos a análise de variância e teste de médias de Tukey a 5% de probabilidade. Houve indução para todas as enzimas avaliadas, sendo os resultados mais expressivos induzidos pelo fermentado de fumo-bravo, e encontrados em maiores teores em cultivo a campo. Os resultados demonstram o potencial dos macerados e fermentados avaliados na proteção das plantas de tomateiro.

**Palavras Chave:** Mecanismos de Defesa. Plantas Bioativas. Incidência.

**EVALUATION OF BOTANICAL PREPARATIONS OF *Solanum mauritianum* scop AND *Ilex paraguariensis* st. Hill IN THE DEVELOPMENT OF FOLIARY FUNGAL DISEASES**

## IN THE INDUCTION OF RESISTANCE, GROWTH AND PRODUCTION OF TOMATO CULTURE

**ABSTRACT:** The tomato crop (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the main vegetables in volume consumed *in natura* in the world. However the culture is commonly affected by several diseases of difficult control. Therefore, the objective of this chapter was to evaluate the efficiency of macerated and fermented plants (*Solanum mauritianum* Scop) and yerba mate (*Ilex paraguariensis* st. Hil.) In the development of foliar fungal diseases, in the induction of resistance, growth and yield of the tomato crop. The bioactive plant species used were the two that obtained greater efficiency in the preliminary tests *in vitro*. For the experiment installed in greenhouse, each repetition consisted of two pots containing a plant. In field experiment each plot was constituted by six plants and the useful plot was composed by two central plants and the remainder as border. Treatments were sprayed at 15, 30, 45, 60 and 75 days after transplanting at 10% concentration. The evaluations of the incidence of fungal foliar diseases were carried out from the first application of the treatments, at intervals of 15 days. The activity of peroxidases, polyphenoloxies and phenylalanine ammonia-lyase was determined. Growth and production aspects were also evaluated. The experiments were conducted in randomized blocks with five replicates. The results were submitted to analysis of variance and Tukey averages test at 5% of probability. The greenhouse experiment had a lower incidence of foliar fungal diseases, higher plant height and higher yield when compared to greenhouse cultivation, especially *S. mauritianum*. There was an induction for all enzymes evaluated, the most expressive results being induced by wild-type fermented, and found in higher levels in field cultivation. The results demonstrate the potential of the macerated and fermented ones evaluated in the protection of tomato plants.

**Key words:** Mechanisms of Defense. Bioactive Plants. Incidence.

### 1 INTRODUÇÃO

A cultura do tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.) é uma das principais hortaliças em volume consumida *in natura* no mundo, sendo uma fonte natural de licopeno, um importante composto antioxidante e anticancerígeno, além de fonte de ácidos (ácido acético, ácido lático e ácido málico), vitamina C e de traços de potássio, fósforo e ferro (HACHMANN et al., 2014).

No segmento de tomate de mesa, a oferta na entressafra e a qualidade dos frutos são fatores que podem garantir o sucesso da produção. Para garantir frutos de boa aparência e alta qualidade nutricional é essencial que se realize o manejo correto das doenças fúngicas foliares que podem causar expressivos danos à cultura e conseqüentemente prejuízos ao agricultor, devido a redução da produtividade (COSTA et al., 2012).

Diversas são as doenças que incidem na cultura, e entre elas, as causadas por fungos de parte aérea que acometem as folhas e quando muito severas as demais partes da planta, tais como colmo e frutos. Estes caracterizam-se como organismos de difícil controle, pois depende mais do manejo da cultura do que propriamente do controle. Geralmente o controle é realizado através de produtos químicos sintéticos, no entanto muitos dos produtos químicos disponíveis no

mercado não apresentam uma efetividade total de controle, isso somado ao uso abusivo desses produtos acarreta em um aumento dos custos de produção, comprometendo a rentabilidade financeira da cultura, além de impactar o meio ambiente e a possibilidade de resíduos no produto oferecido ao consumo da população (MARCUIZZO et al., 2015).

A busca por produtos fitossanitários de menor impacto ao ambiente bem como em sistemas de base ecológica tem levado ao avanço de pesquisas nessa área (TELAXKA et al., 2018). Entre as alternativas que tem demonstrado potencial tem se destacado os derivados vegetais, como os extratos que podem atuar na proteção de plantas a doenças por diversos mecanismos, incluindo a ação antimicrobiana direta sobre o fitopatógeno (DIDWANIA et al., 2013). Entre os tipos de extratos estão os macerados aquosos que tem demonstrado resultados promissores, devido às características fungicidas e inseticidas, as quais futuramente poderiam vir a servir de modelo para a síntese de novos produtos, (MAIA et al., 2015), apesar da pouca estabilidade. Alguns trabalhos tem observado que fermentados obtidos a partir de macerados podem potencializar os efeitos do extrato além de aumentar a estabilidade (TELAXKA et al. 2018), no entanto ainda são escassas as informações nesse sentido, bem como pouco se sabe dos mecanismos envolvidos na proteção das plantas por esses preparados.

A indução de resistência se propõe a controlar doenças de plantas com a vantagem de proteger o hospedeiro, de fitopatógenos. Dentre estes se encontram vírus, bactéria e fungos. A indução de resistência se baseia na ativação de respostas de defesa, que tem como objetivo evitar o estabelecimento do fitopatógeno (MELO, 2016) Em condições específicas, ocorre a ativação de genes previamente determinados no genoma da planta, conduzindo ao fenômeno da indução através do tratamento com indutores, eliciadores ou elicitores, que podem ser bióticos ou abióticos, sem alteração do genoma (SILVA, 2012).

O tempo de duração do efeito protetor é de extrema importância. Dependendo do indutor de resistência e da planta, o efeito protetor pode durar desde poucos dias até algumas semanas ou mesmo por todo o período de vida da mesma. O chamado priming ou “estado de alerta” é outro fator de suma importância na indução de resistência. Esta condição faz com que a planta ative mais rapidamente suas defesas na presença do patógeno resultando em uma preservação de energia. Alterações metabólicas são detectadas em plantas que passam por um processo de indução. Entretanto, plantas que passam pelo mesmo processo, ou seja, com o mesmo elicitor e, posteriormente, expostas a presença do patógeno apresentam modificações metabólicas mais intensas do que a planta apenas induzida ou exposta ao patógeno (CAMPOS NETO, 2013).

A expressão dos eventos bioquímicos é alterada com a presença do patógeno após a indução, promovendo o acionamento e mecanismos subsequentes, diferentemente de plantas não

induzidas e inoculadas com o patógeno, nas quais a magnitude desses eventos bioquímicos é menor. Todavia, plantas sistematicamente protegida reagem de forma mais rápida e eficientemente ao desafio com um patógeno virulento (GOMES et al., 2011).

Responder fenotipicamente à indução de resistência, não somente no local de exposição ao indutor, mas também em outros sítios da planta é o objetivo da indução, objetivo este que perpassa a distinção entre resistência sistêmica adquirida e resistência sistêmica induzida (CAMPOS NETO, 2013). A resistência induzida envolve uma grande variedade de enzimas, dentre elas  $\beta$ -1,3- glucanases, peroxidases, polifenoloxidasas, fenilalanina amônia-liases, lipoxigenases, e quitinases. Com a indução, a atividade dessas enzimas ou, pelo menos de algumas delas, tende a aumentar nos tecidos de plantas expostas a elicitores de resistência (MELO, 2016).

O objetivo do presente capítulo foi o de avaliar a eficiência de preparados vegetais de fumo- bravo (*Solanum mauritianum* Scop) e erva-mate (*Ilex paraguariensis* st. Hil.) no desenvolvimento de doenças fúngicas foliares, na indução de resistência, na produção e no crescimento de plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum* L.).

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE *Solanum mauritianum* Scop E *Ilex paraguariensis* st Hill SOBRE À INDUÇÃO DE MECANISMOS DE DEFESA EM PLANTAS

Para a avaliação do efeito dos fermentados e macerados de erva-mate e fumo-bravo, na indução de mecanismos de defesa em plantas, após 72 horas da primeira aplicação dos tratamentos foram coletados do terço médio das plantas, cinco discos de 1,5 cm de diâmetro das folhas de tomate e em seguida as amostras foram imediatamente identificadas e congeladas a -20°C. Esse procedimento foi realizado tanto para o experimento a campo como para cultivo protegido.

Para obtenção do extrato enzimático, as amostras foram maceradas em cadinho contendo 0,04 g de polivinilpirrolidona (PVP) e quatro mL de tampão fosfato de sódio 0,01 molar pH 6,8. O macerado foi acondicionado em microtubos de centrífuga (2 mL) e levados para centrífuga refrigerada para centrifugação por 20 minutos a 14.500 g, a 4°C. Em seguida, o sobrenadante foi transferido para outro microtubo que foi mantido a -20°C para posterior realização das análises bioquímicas.

Foram determinados os teores de peroxidases, polifenoloxidasas, e fenilalanina amônia-liase. A atividade de peroxidases foi determinada espectrofotometricamente pela medida da

conversão do guaiacol em tetraguaiacol a 470 nm (LUSSO, PASCHOLATI, 1999). A mistura de reação foi realizada em cubeta de 3mL e consiste de 0,2 mL de extrato protéico e 2,8 mL do substrato para enzima (306 µL de peróxido de hidrogênio P.A., 12,5 mL de guaiacol a 2% e 87,5 mL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0)). A reação foi conduzida a 30°C por dois minutos. A atividade foi determinada pela variação ocorrida entre os valores extremos situados na faixa de incremento linear. Os resultados foram expressos em unidades de absorvância a 470 nm min<sup>-1</sup>mg proteína<sup>-1</sup>.

A atividade das polifenoloxidasas (PFO) foi determinada quantificando a oxidação do catecol convertido em quinona (DUANGMAL, APENTEN (1999)). O substrato foi composto por catecol, na concentração de 20 mM, dissolvido em tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8). A reação se desenvolveu misturando-se 900 µL do substrato e 100 µL do extrato enzimático. A reação foi conduzida à temperatura de 30°C acompanhada de leituras em espectrofotômetro, a 420 nm. As leituras foram realizadas por um período de 2 min. A diferença entre a leitura no primeiro minuto e a leitura inicial foi utilizada para a determinação da atividade. Os resultados foram expressos em absorvância a 420 nm min<sup>-1</sup>mg de proteína<sup>-1</sup>.

A atividade de fenilalanina amônia-liase foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Umesha (2006), onde 100 µL do extrato enzimático foram acrescidos de 400 µL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8) e 500 µL de solução de L- fenilalanina 0,05 M (825,9 mg diluído em 100 mL de tampão Tris-HCL0,025 M (pH 8,8)). Incubou-se essa mistura a 40°C durante 2 h. Ao final desse período adicionou-se 60 µL de HCl 5 M para cessar a reação, seguindo-se a leitura em espectrofotômetro a 290 nm. A atividade de fenilalanina amônia-liase consistiu da diferença entre a absorvância da mistura contendo amostra e do controle (100 µL de extrato enzimático e 900 µL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH8,8)), a qual foi plotada em curva padrão para ácido trans-cinâmico e expressa em mg de ácido trans-cinâmico h<sup>-1</sup> mg proteína<sup>-1</sup>.

## 2.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE *Solanum mauritianum* Scop E *Ilex paraguariensis* st Hill SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS FOLIARES NA CULTURA DO TOMATEIRO

Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e área experimental da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Laranjeiras do Sul, Paraná. As plantas utilizadas na formulação dos preparados vegetais foram selecionadas com critérios de origem e abundância local sendo requisito na obtenção de produtos à base de extratos vegetais, correspondendo a fácil aquisição e derivadas de fontes renováveis.

As plantas bioativas utilizadas nos experimentos *Ilex paraguariensis* (erva-mate) e *Solanum mauritianum* (fumo-bravo) foram coletadas em propriedades rurais do município de Laranjeiras do Sul no período da manhã que segundo Triaca et al (2018) é o melhor horário para coleta de plantas frescas. Não foram coletadas plantas doentes, ou com sintomas e/ou sinais de patógenos ou de ataque de pragas. Em seguida, foram acondicionadas em sacos plásticos devidamente identificados e levadas para secagem em estufa a 36°C por 72 h, posteriormente trituradas em moinho de facas do tipo Willey, para formulação dos preparados. Foi denominado macerado botânico o produto final da junção de 150g do material vegetal seco e triturado que permaneceu por um período de 24 horas em 1,5L de água destilada, em seguida filtrado em gaze e papel de filtro para posterior utilização nos experimentos na concentração de 10%. Já o fermentado botânico foi obtido à partir da junção de 1,5L de água destilada e 150 g do material vegetal seco e triturado. A fermentação ocorreu de maneira espontânea e aeróbica, mantendo-se o material no escuro por dez dias, passando por agitação (por 1 minuto) uma vez ao dia para que ocorresse a fermentação aeróbica (TRIACA, et al., 2018), foi verificado fermentação visual com formação de bolhas, mudança de cor e odor. Em seguida o material foi filtrado em gaze e papel de filtro e preparada a concentração de 10% para utilização posterior utilização nos experimentos. Para diluição foi utilizada água destilada.

Os tratamentos utilizados nos experimentos foram fermentado e macerado de *Ilex paraguariensis*; macerado e fermentado de *Solanum mauritianum* e testemunha (água destilada). Para os experimentos foi utilizada a cultivar Santa Clara, semeada em bandejas contendo 200 células, utilizando-se de substrato comercial *Germina Plant*, recomendado para formação de mudas. Após a semeadura as bandejas foram acondicionadas em casa de vegetação, por um período de 45 dias, quando atingiram aproximadamente 10cm de altura e 4 folhas definitivas.

Após esse período as mudas foram transplantadas para vasos e canteiros, em condição de casa de vegetação e à campo respectivamente. Em casa de vegetação os vasos com capacidade para 8l foram preenchidos com uma mistura de solo, areia e adubo orgânico à base de cama de aviário em uma proporção de 3:1:1. Os vasos foram distribuídos sob uma mesa com espaçamento de 0,5m entre um vaso e outro. Cada repetição foi composta por dois vasos contendo uma planta cada, sendo cinco repetições totalizando 50 vasos.

Os canteiros que receberam as mudas, foram preparados 45 dias antes do transplante, com adubação orgânica à base de cama de aviário, quantidade calculada com base na análise de solo. As mudas foram transplantadas com espaçamento de 0,5x1,0m, cada parcela constituiu-se de 6 plantas, sendo utilizadas as duas plantas centrais e o restante como bordadura. Cada parcela

recebeu um tratamento, e constituiu uma repetição, como foram utilizadas cinco repetições, o total de plantas por tratamento foi de 30 e no total de 150 plantas.

Em condição de casa de vegetação e à campo, as plantas foram tutoradas à partir do sétimo dia do transplântio, com auxílio de estacas de bambu. O amarrio utilizado foi em formato de 8, para garantir que as plantas se desenvolvessem de forma ereta, e evitasse o tombamento das mesmas. As pulverizações dos tratamentos foram realizadas, 15, 30, 45, 60 e 75 dias após o transplântio, com auxílio de pulverizador costal de 20L, no período da manhã para minimizar as perdas causadas pela evaporação. As avaliações da incidência de doenças foliares foram realizadas a partir da primeira aplicação dos tratamentos, em intervalos de 15 dias, sendo realizadas cinco avaliações. Para as avaliações foram contabilizadas as folhas que apresentavam sintoma de doença fúngica foliar. Com base nos dados obtidos, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), utilizando-se a seguinte fórmula:

$$\text{AACPD} = \sum [(Y_i + Y_{i+1}) \cdot 2 - 1 \cdot (T_{i+1} - T_i)], \text{ onde:}$$

**AACPD** = área abaixo da curva de progresso da doença;

**Y<sub>i</sub>** = incidência na época da avaliação, e

**T<sub>i</sub>** = idade da planta na época da avaliação.

### 2.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE *Solanum mauritianum* Scop E *Ilex paraguariensis* st Hill SOBRE O CRESCIMENTO E À PRODUÇÃO DO TOMATEIRO

Para a avaliação do efeito dos fermentados e preparados de plantas bioativas sobre a produtividade da cultura do tomateiro, foi realizada a colheita dos frutos de forma manual, assim que atingiram o ponto de colheita. Os frutos foram identificados e acondicionados em sacos plásticos para posterior pesagem e medição do diâmetro. Os resultados foram expressos em g e cm, respectivamente.

Para a avaliação do efeito dos fermentados e preparados de plantas bioativas sobre o crescimento de plantas, foi realizada a medição das plantas que compõe a parcela útil com auxílio de uma trena, por ocasião do florescimento. Os resultados foram expressos em cm.

### 2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os ensaios foram conduzidos em blocos ao acaso com cinco repetições. Para análise estatística dos resultados obtidos, estes foram submetidos inicialmente a testes de normalidade e homogeneidade, sendo transformados quando necessário. Os resultados foram submetidos a

análise de variância e teste de médias de Tukey a 5% de probabilidade. Análises foram realizadas com auxílio do programa computacional Sisvar (FERREIRA, 2007).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE *Solanum mauritianum* Scop E *Ilex paraguariensis* st Hill SOBRE A INDUÇÃO DE MECANISMOS DE DEFESA EM PLANTAS

Para a atividade da fenilalanina-amônia-liase (FAL) (Figura 3A), o tratamento macerado de *Ilex paraguariensis* não se diferenciou da testemunha. Houve um incremento na atividade da enzima FAL de 31, 59 e 62% maior que a testemunha, para os tratamentos à base de fermentado de *Ilex paraguariensis*, macerado de *Solanum mauritianum* e fermentado de *Solanum mauritianum* respectivamente. Já para a atividade da peroxidase (Figura 3B) houve um incremento de 70, 75, 54 e 81% para os tratamentos à base de macerado de *Ilex paraguariensis*, fermentado de *Ilex paraguariensis*, macerado de *Solanum mauritianum* e fermentado de *Solanum mauritianum* respectivamente. Para a atividade de polifenoloxidase (Figura 3C) não se diferenciam entre si os tratamentos à base de *Solanum mauritianum*. Houve incremento de 76, 80, 83 e 86% para a atividade da polifenoloxidase para os tratamentos a base de macerado de *Ilex paraguariensis*, fermentado de *Ilex paraguariensis*, macerado e fermentado de *Solanum mauritianum* respectivamente. Com esses resultados observa-se a superioridade do fermentado da planta bioativa *Solanum mauritianum* na indução de mecanismos de defesa no tecido foliar de plantas de tomateiro.

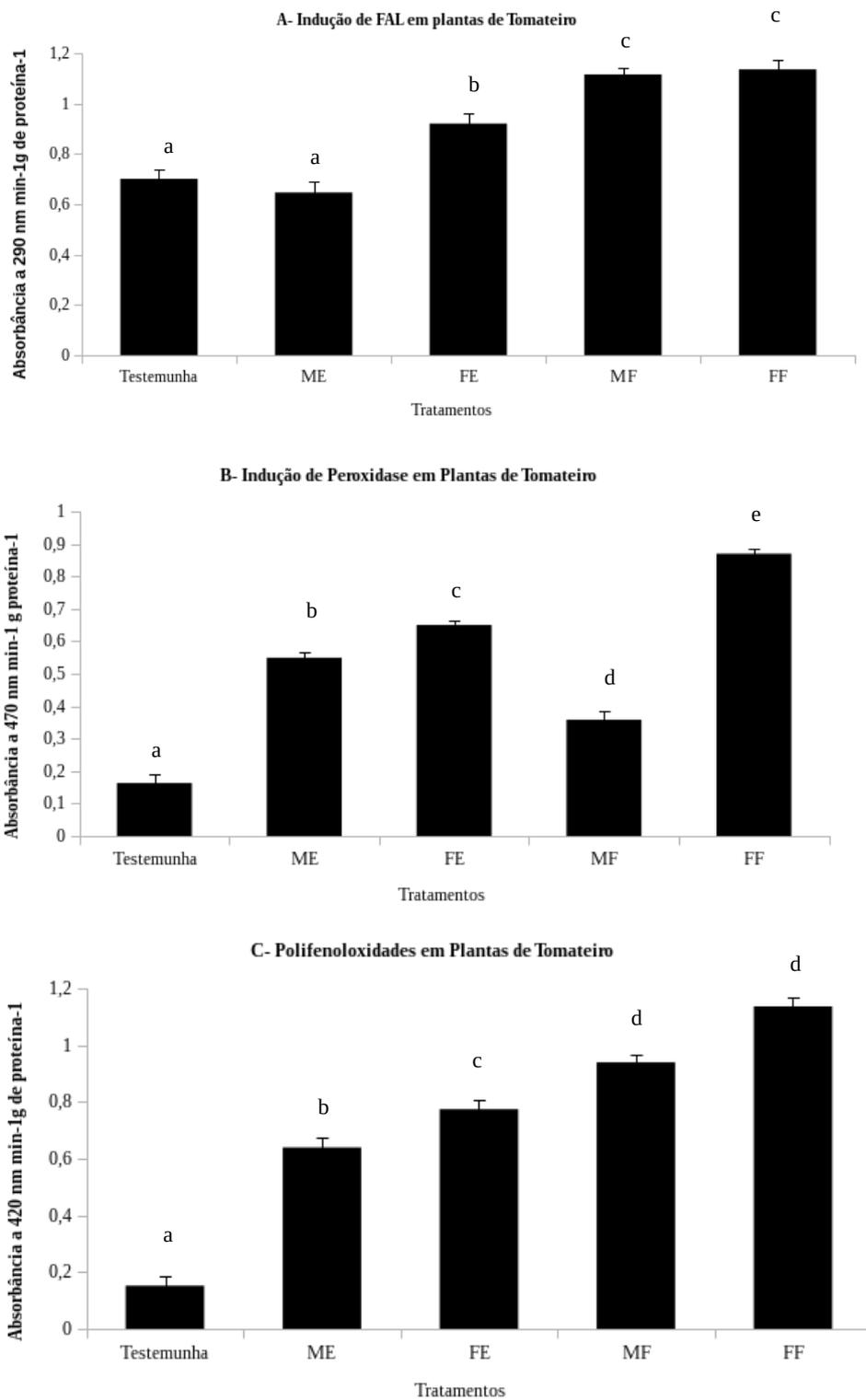


Figura 3. Atividade de fenilalanina amônia-liase (A), peroxidase (B) e polifenoloxidase (C) em plantas de tomateiro tratadas com macerado e fermentado de *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis* em condição de casa de vegetação. Onde ME: macerado de erva-mate; FE: fermentado de erva-mate; MF: macerado de fumo-bravo e FF: fermentado de fumo-bravo. Média seguida da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5%).

Segundo Lorenzetti et al (2018), a atividade da enzima FAL produz precursores para a biossíntese de lignina e de outros compostos fenólicos, os quais se depositam como reação a infecção. Neste estudo, a indução não estaria relacionada com o processo de colonização do patógeno, mas sim ao indutor, ou seja, seria uma atividade elevada devido a indução pelos tratamentos a base de fermentado de *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum* e macerado de *Solanum mauritianum* na concentração 10% visto que a mesma foi observada com menor incremento para o tratamento macerado de *Ilex paraguariensis* e tratamento controle, os quais também passaram pelo processo de indução.

Quando uma planta é exposta a um determinado eliciador de forma antecipada, ou seja, preventiva, seus tecidos demonstram reação mais rápida e eficiente do que durante as tentativas de colonização do patógeno. Isto seria um estado primário de indução da planta, ou seja, uma sensibilização ou um condicionamento da mesma (STANGARLIN et al., 2011). O contato entre o eliciador e a planta de forma precoce desencadearia, portanto, a síntese de algumas substâncias as quais se comportam como sinais bioquímicos, que podem ser um *start* para desencadear um processo de indução, como observado neste trabalho com a peroxidase (DALLAGNOL, 2018).

Segundo Lorenzetti et al (2018), a alteração na atividade de peroxidase é correlacionada a suscetibilidade ou resposta de resistência em diversos patossistemas. Mudanças da atividade de peroxidases podem ser indício de indução de resistência, já que as enzimas agem de forma preventiva, buscando impedir que o patógeno penetra a parede celular. Uma atividade mesmo que baixa ou uma atividade mais expressiva inicialmente, podem ter relação com a predisposição a resistência e, portanto, apresentarem uma maior expressão quando o patógeno inicia o processo infeccioso (MULLER et al., 2016).

A importância da atividade das polifenoloxidasas na defesa das plantas a fitopatógenos, provavelmente, deve-se à sua propriedade de oxidar compostos fenólicos para quinonas, as quais são mais tóxicas aos microrganismos do que os fenóis originais, e à sua ação protetora no local do ferimento. Essas enzimas também participam do processo de lignificação durante a invasão pelo patógeno. Uma maior atividade das polifenoloxidasas possivelmente incrementa as concentrações de produtos tóxicos resultantes da oxidação, aumentando, portanto o grau de resistência à infecção (TOYOTA, 2011).

No experimento em condição de campo houve indução das enzimas FAL (Figura 4A), peroxidase (Figura 4B) e polifenoloxidase (Figura 4C), por todos os preparados vegetais. Os tratamentos macerado de *Solanum mauritianum*, macerado de *Ilex paraguariensis*, fermentado de *Solanum mauritianum* e macerado de *Ilex paraguariensis*, incrementaram 91, 89, 93 e 90% a atividade da fenilalanina, 66, 58, 81 e 76% a atividade da peroxidase e 89, 87, 92 e 90% a

atividade das polifenoloxidasas, respectivamente em relação ao tratamento controle, indicando a superioridade do fermentado botânico em relação ao macerado na indução de resistência em plantas de tomateiro.

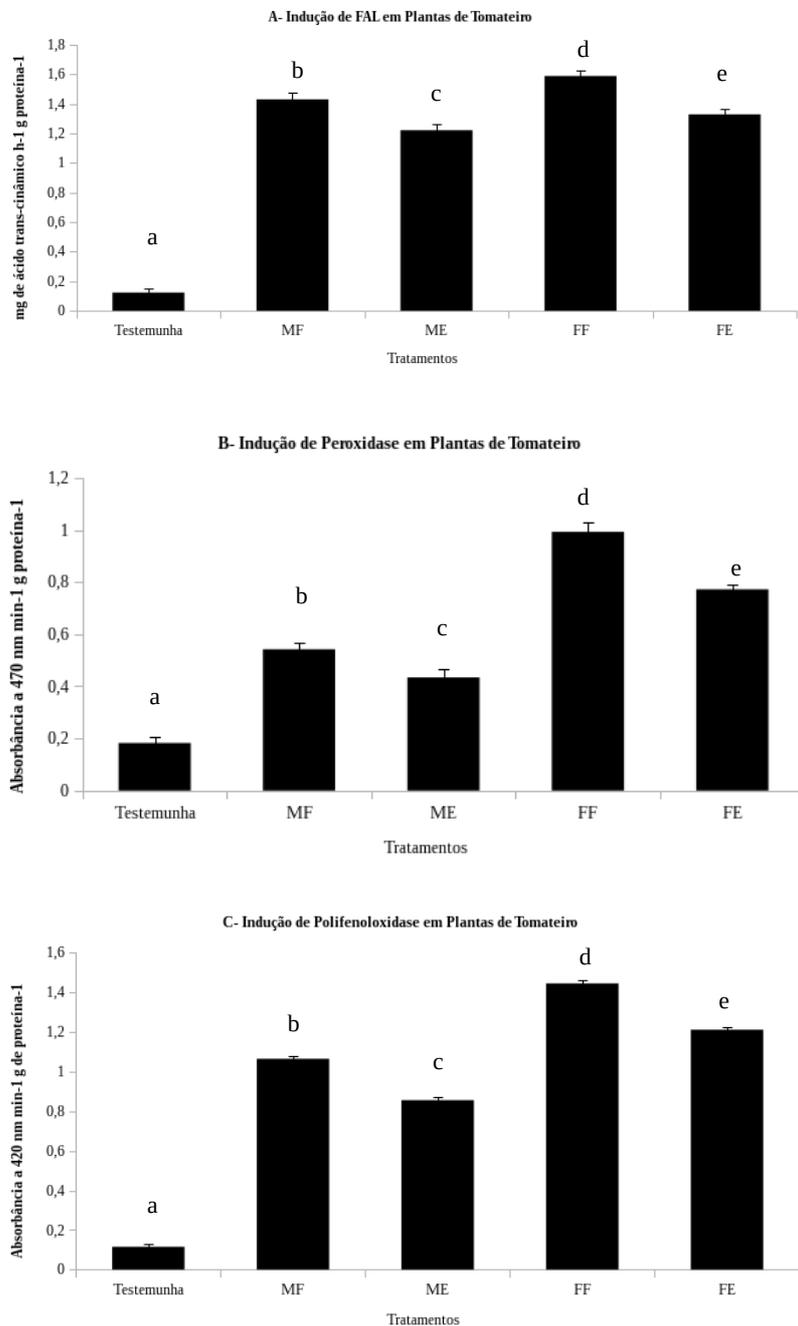


Figura 4: Atividade de fenilalanina amonia-liase (A), peroxidase (B) e polifenoloxidase (C) em plantas de tomateiro tratadas com macerado e fermentado de *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis* em condição de campo. Onde ME: macerado de erva-mate; FE: fermentado de erva-mate; MF: macerado de fumo-bravo e FF: fermentado de fumo-bravo. Média seguida da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (5%).

A fenilalanina amônia-liase é fundamental na biossíntese de fenilpropanóides e participa da síntese de monômeros de lignina, ácido salicílico, fitoalexinas e flavonoides. Os compostos formados neste metabolismo, quando atacados por enzimas oxidativas, gera escurecimento dos tecidos, aspecto muitas vezes rejeitado pelos consumidores (LIMA, 2017). A fenilalanina amônia – liase, está relacionada com a resistência de plantas à patógenos notadamente, por estar envolvida no primeiro passo da síntese dos fenilpropanóides, resultando em compostos principalmente como lignina, que confere maior resistência à parede celular das plantas aos patógenos. A atividade dessa enzima é influenciada por vários fatores externos e internos, como hormônios, níveis de nutrientes, luz, infecção por patógenos e ferimentos (VALENTE, 2012).

As peroxidases são uma importante classe de proteínas relacionadas à patogênese. São glicoproteínas secretadas no apoplasto que têm a função básica de reagir com compostos contendo o grupo hidroxila anexado a um anel aromático. As peroxidases catalisam reações de um grande número de compostos, entre eles os fenóis. Essas enzimas também participam na biossíntese de etileno, na formação de lignina e no metabolismo de parede celular, além da defesa de plantas contra patógenos (TOYOTA, 2011). Na indução de resistência, as peroxidases são bastante estudadas devido à sua importância nos processos de defesa e, na maioria dos casos, o aumento na atividade está diretamente relacionado à redução da severidade da doença.

Já as polifenoloxidasas agrupam um conjunto de enzimas responsáveis pela catálise da reação de oxidação de polifenóis transformando-os em quinonas, constituindo uma atividade de difenolases. A atividade da maioria das polifenoloxidasas quase sempre é maior nos tecidos infectados de variedades resistentes do que em plantas suscetíveis infectadas ou plantas sadias não infectadas. Conceitualmente as polifenoloxidasas não são classificadas como proteínas relacionadas a patogênese, porém pelo fato de serem induzidas por fatores abióticos e bióticos, são comumente envolvidas em mecanismos de defesa das plantas (XAVIER, 2011).

### 3.2 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE *Solanum mauritianum* Scop E *Ilex paraguariensis* st Hill SOBRE O DESENVOLVIMENTO DE DOENÇAS FOLIARES NA CULTURA DO TOMATEIRO

Com base nas figuras 5A e 5B observa-se que a incidência das doenças em condição de campo e em casa de vegetação foram menores com a aplicação dos tratamentos a fermentados de *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis*. Porém os tratamentos à base de macerado também obtiveram baixos níveis de intensidade de doenças. Em ambas as condições de cultivo as plantas que receberam apenas água destilada apresentaram altos índices de doenças. Percebe-se também que houve uma maior incidência de doenças em condição de casa de vegetação do

que em condição de campo. Isto pode ter ocorrido porque as plantas em condição de casa de vegetação foram cultivadas em vasos o que limita o desenvolvimento das raízes, consequentemente reduz à absorção de água e nutrientes, o que torna à planta mais suscetível ao ataque de patógenos. Os mecanismos de ataque e defesa, são oriundos de um sistema planta – ambiente - agente causal onde as condições em que a planta está sendo cultivada tais como luminosidade, disponibilidade de água, condições de solo e clima, podem influenciar na atividades das enzimas de defesa das plantas, e consequentemente na incidência de doenças.

A menor incidência de doenças observada em plantas tratadas, se deu devido a produção de moléculas bioativas pelas plantas ser um mecanismo de defesa contra patógenos e pragas. Nesse sentido, os efeitos antifúngicos e antimicrobianos são o resultado de moléculas isoladas ou a ação sinérgica de substâncias produzidas pelas plantas (OLIVEIRA et al., 2018).

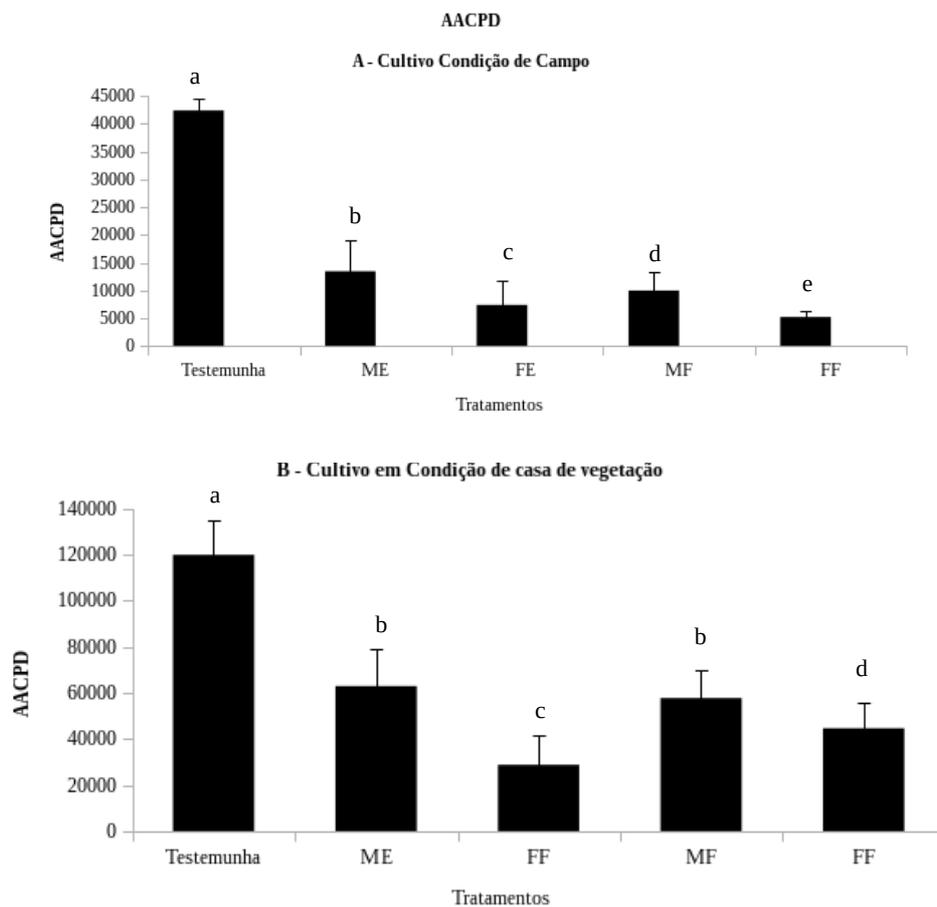


Figura 5: Área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) para incidência de *Alternaria linariae* em plantas de tomate cultivadas em condição casa de vegetação A e de campo B, em função da aplicação de fermentados e macerados (10%) de *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis*.

O uso de preparados vegetais na indução de resistência ainda é muito incipiente, apesar dos inúmeros relatos de ação fungitóxica *in vitro* de extratos de diferentes espécies vegetais contra fungos fitopatogênicos como: de extratos de alho (*Allium sativum*), de canela (*Cinnamomum zeylanicum*) e extratos de tabaco (*Nicotiana tabacum*) sobre *Alternaria solani* (DOMINGUES et al.; 2017).

Na agricultura de base ecológica, as estratégias de controle das doenças devem ser, prioritariamente, baseadas em práticas que contribuam para a redução do inóculo inicial, para tornar o ambiente menos propício às infecções pelos agentes patogênicos, aumentar a resistência das plantas às infecções (DOMINGUES et al., 2017). A disponibilidade de produtos de ação protetora ou curativa torna-se mais importante à medida que as práticas anteriores não são observadas ou, não são suficientes para reduzir as infecções e as perdas causadas pela doença.

### 3.3 AVALIAÇÃO DO EFEITO DE PREPARADOS VEGETAIS DE *Solanum mauritianum* scop E *Ilex paraguariensis* st. Hill. SOBRE O CRESCIMENTO E A PRODUÇÃO NA CULTURA DO TOMATEIRO

De acordo com os dados da Tabela 8, observa-se que em condição de campo o fermentado de *Ilex paraguariensis* não se diferenciou da testemunha; os tratamentos macerado de *Ilex paraguariensis* e macerado de *Solanum mauritianum* não se diferenciam entre si e o tratamento fermentado de *Solanum mauritianum* obteve os melhores resultados com crescimento 77% superior em relação ao tratamento controle. Em condição de casa de vegetação todos os tratamentos apresentaram maior altura de plantas em relação á testemunha, com destaque para tratamento à base de *Solanum mauritianum* com crescimento 53% superior á testemunha.

Tabela 8: Altura de plantas de tomateiro (cm) no estágio de florescimento, após 5 aplicações de fermentado e macerado (10%) de *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis*, em condição de cultivo em casa de vegetação e a campo.

Tratamentos	Cultivo a Campo	Cultivo em Casa de vegetação
Testemunha	48,0 ± 2,82 a	43,0 ± 3,53 a
Fermentado de <i>Solanum mauritianum</i>	84,8 ± 3,53 b	59,8 ± 1,2 b
Macerado de <i>Solanum mauritianum</i>	73,0 ± 0,70 ab	65,8 ± 5,64 c
Fermentado de <i>Ilex paraguariensis</i>	52,1 ± 2,82 a	61,4 ± 0,6 bc
Macerado de <i>Ilex paraguariensis</i>	72,4 ± 8,4 ab	63,0 ± 5,63 bc
CV%	20	5,16

Médias ± EPM seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os resultados demonstram que fermentados vegetais podem promover efeito estimulante no desenvolvimento das plantas. Triaca et al (2018), destacam que os fermentados aquosos além de aumentar a resistência ao ataque de pragas e doenças, estimula o processo fotossintético nas plantas melhorando o enraizamento das plantas, aumentando o conteúdo de vitaminas, minerais e outras substâncias, promovendo assim o crescimento das plantas tratadas (TRIACA et al., 2018).

O processo de fermentação induz a quebra estrutural da parede das células vegetais, levando a liberação ou síntese de vários compostos antioxidantes (HUR et al., 2014). Nesse sentido os fermentados exercem efeitos benéficos sobre a absorção e biodisponibilidade de extratos vegetais, facilitando a produção ou a conversão de componentes ativos em seus metabólitos ou gerando substâncias de baixo peso molecular, tais como glicosídeo (HUSSAIN et al., 2016).

Os fermentados botânicos têm sido de interesse, especialmente na agricultura orgânica, pois têm demonstrado potencial efeito no crescimento de culturas tais como cebola, ervilha, milho doce, rabanete, feijão-caupi e tomate. Pulverizações dos fermentados botânicos ajudam na promoção do crescimento de mudas e na produção de cultivos agrícolas (MUNGKUNKAMCHAO et al., 2013).

Os dados observados nas tabelas 9 e 10 demonstram que além de promoverem o crescimento de plantas de tomateiro, os fermentados e macerados vegetais atuam também no desenvolvimento de frutos. Os frutos colhidos das plantas em condição de campo obtiveram peso semelhante ao esperado para a cultivar Santa Clara de 110 à 120g aproximadamente. Já para os frutos colhidos em condição de casa de vegetação, percebe-se que não houve número de frutos desejado por planta, diminuindo assim o peso e o diâmetro dos mesmos. Um fator a considerar é que as plantas cultivadas em vasos, tem a limitação de desenvolvimento radicular, acarretando em menor crescimento e desenvolvimento de planta e número menor de frutos.

De acordo com a tabela 10 observa-se que não houve diferença significativa entre os tratamentos e em relação à testemunha para número de frutos e peso de frutos em condição de casa de vegetação. Vale ressaltar que esses resultados não expressam a inferioridade do cultivo protegido em relação ao cultivo à campo, já que as plantas foram cultivadas em vasos, e não em solo. As condições de cultivo em vaso influenciaram diretamente nos resultados. Porém esses resultados demonstram o potencial dos fermentados na formação de frutos, já que o fermentado de *Solanum mauritianum* apresentou os melhores resultados, seguido do fermentado de *Ilex paraguariensis*.

Tabela 9: Número de frutos por planta, peso (g) e diâmetro (cm) de frutos de tomateiros, após 5 aplicações de fermentado e macerado (10%) de *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis*, sob cultivo à campo, por ocasião do ponto de colheita.

Tratamentos	Nº de frutos	Peso (g)	Diâmetro (cm)
Testemunha	7,6 ± 0,2 a	86,6 ± 0,4 a	65,8 ± 0,7 a
Fermentado de <i>Solanum mauritianum</i>	16,8 ± 0,7 b	117,6 ± 2,1 b	79,6 ± 1,4 b
Macerado de <i>Solanum mauritianum</i>	12,6 ± 0,7 b	112,0 ± 2,1 b	75,0 ± 0,8 b
Fermentado de <i>Ilex paraguariensis</i>	14,4 ± 1,4 b	113,0 ± 0,7 b	78,0 ± 2,1 b
Macerado de <i>Ilex paraguariensis</i>	12,4 ± 0,1 b	111,0 ± 0,5 b	75,0 ± 0,9 b
CV%	5,3	7,0	8,0

Médias ± EPM seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Tabela 10: Número de frutos por planta, peso (g) e diâmetro (cm) de frutos de tomateiros, após 5 aplicações de fermentado e macerado (10%) de *Solanum mauritianum* e *Ilex paraguariensis*, sob cultivo em casa de vegetação, por ocasião do ponto de colheita.

Tratamentos	Nº de frutos	Peso (g)	Diâmetro (cm)
Testemunha	1,2 ± 1,4 a	25,8 ± 1,0 a	20 ± 1,3 a
Fermentado de <i>Solanum mauritianum</i>	6,6 ± 0,7 a	34 ± 2,2 a	32 ± 1,1 b
Macerado de <i>Solanum mauritianum</i>	3,8 ± 1,4 a	29 ± 1,4 a	25 ± 0,9 a
Fermentado de <i>Ilex paraguariensis</i>	5,3 ± 0,4 a	30 ± 2,1 a	29 ± 1,2 a
Macerado de <i>Ilex paraguariensis</i>	3 ± 1,4 a	30 ± 1,0 a	23 ± 0,7 a
CV%	21	19	10

Médias ± EPM seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Os fermentados aquosos à base de vegetais possuem inúmeros benefícios quando utilizados na sanidade vegetal, tais como: estimular a flora microbiana protetora das plantas, aumentando sua resistência ao ataque de pragas e doenças; estimular o processo fotossintético

nas plantas; revitalizar a flora microbiana benéfica do solo e recuperar a fertilidade do mesmo; acelerar a decomposição de matéria orgânica; melhorar o enraizamento das plantas, estimulando o crescimento radicular; além de aumentar o conteúdo de vitaminas, minerais e outras substâncias (TRIACA et al., 2018), resultando em um ótimo desenvolvimento de frutos.

No segmento de tomate de mesa, a qualidade do fruto é um fator determinante para garantir o sucesso da produção. Uma das formas de melhorar a qualidade e aparência do tomate é a adoção de técnicas adequadas de manejo da cultura (HACHMANN et al., 2014). O cultivo em ambiente protegido proporciona aumento nos rendimentos, bem como frutos de melhor qualidade, controlando os fatores responsáveis pelo crescimento e desenvolvimento das plantas (SILVA et al., 2012).

A forma como a cultura é conduzida é muito importante para se obterem ganhos de produtividade e qualidade do fruto, sempre buscando-se diminuir os custos de produção. Nesse contexto, juntamente com o tutoramento vertical, uma prática cultural recomendada, quando o cultivo é realizado em ambiente protegido, é a remoção das folhas baixas das plantas, visando melhorar o aproveitamento da luz solar, aumentar o arejamento entre as plantas e, conseqüentemente, diminuir a incidência e transmissão de doenças e pragas. Em contato com o solo, essas folhas tendem a ser porta de entrada para patógenos, além de formarem um ambiente úmido, favorável ao seu desenvolvimento (SILVA et al., 2012).

## CONCLUSÕES

Os macerados e fermentados de *Ilex paraguariensis* e *Solanum mauritianum* apresentaram efeito indutor de FAL, peroxidases e polifenoloxidasas, tanto em condições de campo como em casa de vegetação. Acarretaram num maior crescimento de plantas e desenvolvimento de frutos. Fermentados promoveram resultados superiores ao macerado em alguns atributos avaliados, com destaque para indução de peroxidase em cultivo em casa de vegetação e a campo; redução da incidência de doenças fúngicas foliares a campo e número de frutos em condição de campo.

Os resultados do presente trabalho revelam o potencial dos fermentados e dos macerados na proteção do tomate contra doenças e a necessidade da realização de novos trabalhos avaliando os preparados botânicos em concentrações distintas e em condições favoráveis à ocorrência e desenvolvimento de doenças. Além disso, cabe destacar a eficiência do fermentado da espécie bioativa *Solanum mauritianum*, que além de atuar como indutor de resistência

ativando as enzimas de defesa das plantas, atuou na promoção do crescimento e na formação de frutos de tomateiro.

## REFERÊNCIAS

BALMER, D.; et al. Induced resistance in maize is based on organ-specific defense responses. **The Plant Journal**, v. 74, p. 213-225, 2013.

BORGES, I. V.; et al. Extrato de jurema preta no controle de mancha-de-alternaria em melancia. **Revista Caatinga**, v.26, p.36-45, 2013.

CAMPOS NETO, J. R. M. Indução de resistência no manejo da fusariose do tomateiro em São Luís-MA. 2013. 74 f. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Estadual do Maranhão, São Luis, 2013.

CARVALHO, N. L. Resistência genética induzida em plantas cultivadas. **Revista Eletrônica, em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v.7, n.7, p.1379-1390. 2012.

CLEMENTE, F. M. V. T.; BOITEUX, L. S. **Produção de tomate para processamento industrial**. 1ª ed., Brasília: Embrapa, 2012. p. 17-27.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Boletim Hortigranjeiro**, v. 4, n. 8, p.35-39. 2018.

COSTA, J. R.; et al. Ocorrência e caracterização do complexo de espécies causadoras da mancha bacteriana do tomateiro no Alto Vale do Rio do Peixe, SC. **Tropical Plant Pathology**, v.37, n.2, p.149-154, 2012.

RUZ, S. M. C.; et al. Ação indutora de produtos abióticos na resistência de tomateiro e efeito sobre o crescimento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. **Revista Idesia**, v.29, n.2. p111-118, 2011.

DOMINGUES, D. P.; et al. Sensibilidade de *Stemphylium solani* a extratos vegetais e caldas e controle da doença no tomateiro em estufa. **Revista de Ciências Agrárias**, v.40, n.1, p. 114-123. 2017.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R.K. O. A comparative study of poliphenoloxidasas. **Summa Phytopathologica**. v.64, p.351-359. 1999.

DIDWANIA, N.; et al. Antibacterial activity of a few medicinal plants against *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*. **International Journal Research in Pharmaceutical Sciences**, v.4, n.2, p.177-182, 2013.

EMBRAPA. **A cultura do tomate**. 2018. Acesso 23 de dezembro de 2018, disponível em <<https://www.embrapa.br/en/hortalicas/tomate-de-mesa/cultivares2>>.

FERREIRA, D. F. SISVAR: **Sistema de análise de variância para dados balanceados, versão 5.0**. Lavras: DEX/UFLA, 2007. CD-ROM. Software.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of United Nations. **Food and Agricultural commodities production** [Online]. 2011.

GOMES, C. S.; et al. Manejo do míldio e ferrugem em videira com indutores de resistência: produtividade e qualidade pós-colheita. **Tropical Plant Pathology**, Brasília v. 36, p. 332-335, 2011.

HACHMANN, T. L. et al. Cultivo do tomateiro sob diferentes espaçamentos entre plantas e diferentes níveis de desfolha das folhas basais. **Bragantia**, v. 73, n. 4, p.399-406, 2014.

HUSSAIN, A. et al. Fermentation, a feasible strategy for enhancing bioactivity of herbal medicines. **Food Research International**, v. 81. p.1-16. 2016.

LIMA, G. P. P. **Atividade da Fenilalanina amônia-liase (PAL)**. Universidade Estadual Paulista. p.1-2. Acesso em 26 de dezembro de 2018, disponível em <<http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/QuimicaeBioquimica/BioquimicaPos-Colheita/metodo-da-atividade-da-fenilalanina-amonia-liase-pal.pdf>>.

LORENZETTI, E.; et al. Indução de resistência à *Macrophomina phaseolina* em soja tratada com extrato de alecrim. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 1, p. 45-50, 2018.

LUSSO, M. F. G., PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**. v.24, n.3. p. 244-249. 1999.

MAIA, T. F.; et al. E. Atividade antifúngica de óleos essenciais de plantas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 17, n. 1, p.105-116, 2015.

MARCUZZO, L. L.; et al. Validação de um sistema de previsão para a mancha bacteriana do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 3, p. 214-218, 2015.

MELO, L. G. L. Indução de resistência no manejo da fusariose e podridão negra do abacaxi. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal Rural de Pernambuco. Recife. 63p. 2016.

MULLER, M. A.; et al. *In vitro* toxicity and control of *Meloidogyne incognita* in soybean by rosemary extract. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.37, p.103-110, 2016.

MUNGKUNKAMCHAO, T.; et al. Wood vinegar and fermented bioextracts: Natural products to enhance growth and yield of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Scientia Horticultura**, v. 154, p. 66–72. 2013.

NASCIMENTO, W. M.; et al. Germinação de sementes de tomateiro em diferentes temperaturas: Variabilidade fenotípica e heterose. **Horticultura Brasileira**, 34, n. 1, p. 216-222. 2016.

OLIVEIRA, S. S.; et al. Efeito da temperatura e extratos de plantas no controle da antracnose da bananeira (*Musa* sp.) causada por *Colletotrichum musae*. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.15 n.28; p. 451-460. 2018.

PASCHOLATI, S. F.; et al. Indução de resistência contra patógenos: definição e perspectivas de uso. **Visão Agrícola**, v.13, n.1, p.110-112. 2015.

STANGARLIN, J. R.; et al. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v.10, n.1, p 18-46. 2011.

SILVA, E. K. C. Condições favoráveis para ocorrência da podridão por lasiodiplodia e métodos alternativos de controle na pós-colheita do maracujá-amarelo. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 93 p. 2012.

TELAXKA, F. J.; et al. Extrato aquoso e fermentado de fumo-bravo (*Solanum mauritianum* Scop) na proteção do feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.) ao crestamento bacteriano comum. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**, v.8, n.3, p.81-90, 2018.

TOLEDO, D. S.; et al. Production and quality of tomato fruits under organic management. **Horticultura Brasileira**, vol. 29, n.3, p. 253-257. 2011.

TOYOTA, M. Indutores de resistência e os eventos bioquímicos de defesa do cafeeiro (*Coffea arabica* L.) contra *Hemileia vastatrix*. **Tese de Doutorado**. Universidade Federal de Lavras. Lavras. 95p. 2011.

TRIACA, T.; et al. Avaliação *in vivo* do fermentado botânico de *Ilex paraguariensis* frente ao fungo *Sclerotinia sclerotiorum* no cultivo de alface crespa. **Pesquisa Aplicada & Agrotecnologia**. v.11, n.1, p.51-58, 2018.

UMESHA, S. Phenylalanine ammonia lyase activity in tomato seedlings and its relationship to bacterial canker disease resistance. **Phytoparasitica**, v.34, n.1, p.68- 71, 2006.

VALENTE, T. C. T. Expressão gênica e atividade de catalase e fenilalanina amônia liase ativadas por indutores de resistência em cafeeiro. **Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal de Lavras. Lavras. 68p. 2012.

XAVIER, K. V. Extratos de cascas de maracujá e de laranja na indução de resistência em cafeeiro contra a ferrugem e em tomateiro contra mancha bacteriana. **Dissertação de Mestrado**.

Universidade Federal de Lavras. Lavras. 85p. 2011.

ZECCHIN, V. J. S.; et al. Tomato seedlings growth (*Solanum lycopersicum*) promoted by bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* FZB42 in organic system. **Revista de Ciências Agrárias**, v.38, n. 1. 2015.