



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS DE LARANJEIRAS DO SUL
CURSO DE GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA COM ÊNFASE EM
AGROECOLOGIA**

MARIZETE DE PAULA

**EXTRATO AQUOSO DE *Rumex crispus* NO CONTROLE DO OÍDIO EM
PEPINEIRO**

LARANJEIRAS DO SUL

2017

MARIZETE DE PAULA

**EXTRATO AQUOSO DE *Rumex crispus* NO CONTROLE DO OÍDIO EM
PEPINEIRO**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia na Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientador: Prof. Dr. Gilmar Franzener

LARANJEIRAS DO SUL

2017

PROGRAD/DBIB - Divisão de Bibliotecas

Paula, Marizete de
EXTRATO AQUOSO DE RUMEX CRISPUS NO CONTROLE DO OÍDIO
EM PEPINEIRO/ Marizete de Paula. -- 2017.
36 f.

Orientador: Gilmar Franzener.
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Agronomia com linha de formação em agroecologia ,
Laranjeiras do Sul, PR, 2017.

1. Controle alternativo. 2. Oídio em pepineiro. 3.
Fitopatologia. I. Franzener, Gilmar, orient. II.
Universidade Federal da Fronteira Sul. III. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

MARIZETE DE PAULA**EXTRATO AQUOSO DE *RUMEX CRISPUS* NO CONTROLE DO OÍDIO EM
PEPINEIRO**

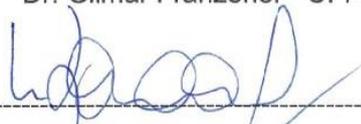
Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção de grau de Bacharel em Agronomia da Universidade Federal Da Fronteira Sul.

Orientador Prof. Dr. Gilmar Franzener

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e aprovado pela banca em:
05/12/2017

BANCA EXAMINADORA

Dr. Gilmar Franzener - UFFS



Dr. Lisandro Tomas da Silva Bonome - UFFS



Dra. Gabriela Silva Moura – PNP/UFFS

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela vida.

Ao meu esposo Emanuel Rodrigo dos Santos, pela paciência, companheirismo, durante esta dura jornada. A minha filha Laura dos Santos, por ser minha motivação.

Aos meus irmãos que sempre acreditaram em mim.

As minhas duas mães, principalmente minha mãe do coração Dilva Favretto pela educação que me deu.

Aos professores que durante a graduação de alguma forma contribuíram para minha formação profissional, aos quais tenho enorme respeito e admiração.

À Gabriela Silva Moura por todo apoio, ajuda e ensinamentos.

Ao meu orientador Gilmar Franzener, pela disponibilidade, paciência, e ensinamentos, durante a minha graduação, pois teve presente em boa parte dela.

RESUMO

O oídio (*Oidium* spp.) é uma das principais doenças foliares das cucurbitáceas, sendo mais limitante em locais onde predominam condições de alta temperatura e baixa umidade durante a época de cultivo. Entre as alternativas potenciais para o controle de doenças em plantas estão derivados obtidos de plantas medicinais. No entanto, informações sobre o potencial uso de plantas espontâneas no controle alternativo do oídio ainda são escassos. Esse trabalho teve por objetivo avaliar o potencial do extrato bruto aquoso de *Rumex crispus* (azedo-crespa) para controle alternativo do oídio em plantas e plântulas de pepineiro, bem como na indução de enzimas relacionadas a defesa. Primeiramente foi avaliada a atividade antifúngica sobre a germinação de esporos, nas concentrações de 0, 1, 5, 10 e 15% do extrato. Essas concentrações do extrato também foram avaliadas sobre a severidade do oídio em plantas e plântulas de pepineiro. Para avaliação da atividade de mecanismos relacionados a defesa foram realizadas análises bioquímicas de peroxidase, polifenoloxidase, fenilalanina amônia-liase e proteínas totais. Nesse caso, além de avaliar as diferentes concentrações, foi conduzido bioensaio no qual foram avaliados os períodos de 0, 24, 48, 72 e 96 h após a aplicação dos tratamentos. Os ensaios foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições para a avaliação de atividade antifúngica e cinco repetições para análise da proteção em plântulas e plantas. O extrato apresentou atividade antifúngica inibindo a germinação dos esporos, com o aumento das concentrações do extrato. Também houve redução de 73,3 e 23,0% na severidade da doença em plantas e em plântulas de pepineiro, respectivamente. Também houve incremento linear na atividade de peroxidases, e fenilalanina amônia-liase. Esses resultados indicam o potencial do extrato na proteção de plantas de pepineiro ao oídio.

Palavras-chave: Controle alternativo. *Oidium* spp. Proteção de plantas.

ABSTRACT

Or powdery mildew (*Oidium* spp.) Is one of the principal doenças foliares das cucurbitáceas, being more limiting in the locality of predominam condições of high temperature and baixa umidade during the growing season. Among the alternatives potentiates for or control of doenças em plants estão derivatives obtained from medicinal plants. No entanto, informações on or potential use of spontaneous plants does not control alternative oídio ainda são escassos. This work has an objective to validate or potential crude extraneous water of *Rumex crispus* (azedo-crespa) for alternative control of plants and plants of pepineiro, as well as for the induction of enzymes related to defesa. Firstly, it was evaluated to antifungal activity on germination of spores, nas concentrações of 0, 1, 5, 10 and 15% do extrato. Essas concentrações do extrato também foram avaliadas sobre a severidade do oídio in pepineiro plants and plântulas. For the evaluation of the mechanisms related to defesa foram performed biochemical analyzes of peroxidase, polyphenoloxidase, phenylalanine amonia-lyase and totais proteins. Nesse case, além to endorse the different concentrations, was conducted bioensaio no qual foram avaliados os periods of 0, 24, 48, 72 e 96 h após a aplicação dos tratamentos. The tests are conducted in an intemally randomized manner with four repetitions for the evaluation of antifungal activity and five repetitions for annalysis of plant and plant protection. Or extrapt apresentou atividade antifúngica inibindo to germinação two spores, as or increase of concentrações do extrato. There was also a 73.3 and 23.0% reduction in the severity of the plants in the peppers, respectively. There was also a linear increase in the number of peroxidases, and phenylalanine ammonia-lyase. These results indicate the potential for extra protection of pepineiro ao powdery mildew plants.

Palavras-chave :. Alternative control. *Oidium* spp. Proteção de plantas.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	10
2.1 OBJETIVO GERAL	10
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
3. REFERENCIAL TEORICO	11
3.1 A CULTURA DO PEPINO	11
3.2 OÍDIO EM CUCURBITÁCEAS	12
3.3 CONTROLE ALTERNATIVO DE DOENÇAS EM PLANTAS	13
3.3.1 Indução de resistência	14
3.4 <i>Rumex crispus</i>	15
4. MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO	16
4.2 OBTENÇÃO DO INÓCULO	17
4.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	17
4.4 EXPERIMENTO DE PROTEÇÃO EM PLANTAS E PLÂNTULAS	18
4.5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	19
4.5 1 Atividade de Peroxidases	19
4.5 2 Atividade de Polifenoloxidasas	20
4.5 3 Conteúdo de proteínas totais	20
4.5 4 Atividade de Fenilalanina amônia-liase (FAL)	20
4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL	21
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
5. 1 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA	21
5.2. PROTEÇÃO DE PLANTAS E PLÂNTULAS	22
5.3. EFEITO NA ESPORULAÇÃO	25
5. 4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS	26
6. CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

O pepineiro (*Cucumis sativus*L.) tem grande importância econômica e social dentro da produção de hortaliças no Brasil. De acordo com Lopes (1991), a produção tem grande importância pois, demanda grande quantidade de mão-de-obra, gerando empregos diretos e indiretos, desde o cultivo até a comercialização, pois necessita de tutoramento, desbrotas e múltiplas colheitas.

Pertence à família das cucurbitáceas, a mesma das abóboras, morangas, melancia, melão, chuchu, maxixe, bucha, melão de São Caetano. É uma espécie de clima quente, assim o plantio dessa cultura geralmente ocorre na primavera-verão. As temperaturas ideais para o desenvolvimento da cultura e durante o ciclo devem estar em torno de 20 a 30°C, baixas temperaturas prejudicam o desenvolvimento da cultura principalmente nos primeiros 35 dias após a germinação, entretanto bem conduzida sobre ambientes protegidos mesmo em lugares com clima frio a cultura se desenvolve muito bem (FILGUEIRA, 2007).

Oídio (*Oidium* sp.) é uma das principais doenças foliares da cultura do pepino seja ele, cultivado ou silvestres, sob condições de alta temperatura e baixa umidade durante a época de cultivo ou sobre cultivo protegido (KUROZAWA & PAVAN, 1997).

Nos últimos anos a agricultura mundial registrou grandes avanços, com aumentos expressivos na produção. Têm se observado grandes investimentos em áreas como engenharia genética com desenvolvimento de cultivares geneticamente modificadas, bem como novos insumos e técnicas de cultivo. No entanto, essas técnicas para obtenção de altos níveis de produção têm se baseado grandemente na dependência de insumos, como fertilizantes altamente solúveis e agrotóxicos para o controle de pragas, doenças e plantas espontâneas. O uso abusivo desses produtos pode levar a problemas de contaminação dos alimentos e do ambiente como um todo, com consequências à saúde humana (GRUTZMACHER et al., 2008).

Segundo Barros et al. (2010) os princípios ativos presentes em extratos de plantas medicinais podem apresentar atividade inibidora direta sobre os fitopatógenos, ou ainda ativar mecanismos de defesa em plantas tratadas. Entre os mecanismos de defesa que podem ser estimulados estão as enzimas relacionadas a defesa vegetal, como as peroxidases e polifenoloxidasas. Essas enzimas desempenham grande importância para planta pois, atuam na degradação oxidativa de compostos fenólicos além de outros potenciais efeitos relacionados a defesa.

Diversos trabalhos mostram o potencial de utilização da planta *Rumex crispus* (azedada crespa) contra agentes infecciosos na medicina humana, bem como atividade antioxidante e antibacteriana (CORUH et al., 2008). No entanto, as pesquisas e resultados de aplicações práticas referentes ao uso desta planta no controle do oídio em pepino e possíveis mecanismos de defesa envolvidos são escassos.

Dessa forma, este estudo busca avaliar o efeito do extrato aquoso de *Rumex crispus* sobre o controle de oídio em pepino bem, como conhecer possíveis mecanismos de defesa envolvidos, contribuindo assim para sua utilização como alternativa ecológica.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Contribuir para produção ecológica e sustentável de alimentos disponibilizando informações e técnicas para o controle alternativo de doenças em plantas pelo uso de extratos de plantas medicinais bem como compreender possíveis mecanismos de ação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar *in vitro* a atividade antifúngica de extrato aquoso de *Rumex crispus* sobre o fungo *Oidium* sp.
- b) Avaliar o efeito protetor do extrato aquoso de *Rumex crispus* na severidade do oídio em plântulas e plantas de pepino.
- c) Avaliar a indução de enzimas de defesa pelo extrato aquoso de *Rumex crispus* em plantas de pepino como indicativo de possíveis mecanismos de ação envolvidos na defesa vegetal.

3. REFERENCIAL TEORICO

3.1 A CULTURA DO PEPINO

O pepino (*Cucumis sativus* L.) pertence à família das cucurbitáceas. Esta família apresenta um grande volume de hortaliças comercializadas no Brasil. Incluem várias espécies que se destacam economicamente no abastecimento nacional pela ampla aceitação popular como o melão, melancia e o pepino (FILGUEIRA, 2007).

A produção anual brasileira de pepino ultrapassa 200.000 toneladas. Em relação à produção por região, a região Sudeste é responsável por mais de 50% do total da produção brasileira (CARVALHO et al., 2013).

Segundo Filgueira (2007) a cultura adapta-se melhor a solos de textura média, leves, embora tolere solos argilosos. A faixa de pH 5,5 a 6,8 é a mais favorável ao desenvolvimento, porém, deve-se proceder à calagem, buscando atingir pH 6,0. Por ser uma cultura de ciclo rápido e bastante produtiva, necessita de solos com elevado nível de fertilidade (CERMENÕ,1978).

Normalmente, apresenta hábito de crescimento indeterminado, onde seu desenvolvimento pode ser da forma vertical ou prostrado. No entanto, o tutoramento é de fundamental importância para a cultura em estufa, pois melhora a qualidade do fruto, favorece a colheita, melhora o controle fitossanitário, possibilita produtividade mais elevada (CARVALHO et al., 2013).

A floração se inicia de seis a sete semanas após a semeadura. As flores são unisexuadas e a floração é monóica, ou seja, a planta possui flores masculinas e femininas, as flores femininas ficam localizadas na parte superior da planta e as masculinas na inferior, na parte médias flores com dois sexos. A colheita dos frutos se dá depois de sete a dez dias da antese (PARIS; DAUNAY; JANICK, 2012).

É uma cultura muito exigente em água, principalmente no início da floração, porém deve-se ter o cuidado com excesso de água, condições que conduzam ao encharcamento, pois, será prejudicial a cultura (CERMENÕ,1978).

O pepino é muito apreciado e consumido em todas as regiões brasileiras. O fruto pode ser consumido na forma crua em saladas, picles (TRANI et al., 2015). E também pode ser utilizado na fabricação de cosméticos assim como medicamentos, por possuir propriedades nutraceuticas (CARVALHO et al., 2013).

3.2 OÍDIO EM CUCURBITÁCEAS

É uma das principais e mais destrutivas doenças foliares das cucurbitáceas, cultivadas e selvagens. Ocorre em praticamente todos os locais onde se cultiva melão, pepino, abóboras e melancia (KUROZAWA & PAVAN, 1997).

Dentre as espécies de fungos causadores de oídio que atacam a família das cucurbitáceas, as que ocorrem com mais frequência e que causam maiores perdas econômicas são *Sphaerotheca fuliginea*, *Erysiphe cichoracearum* e *Leveillula taurica*. Sendo as duas primeiras as mais frequentes e de maior importância econômica. A fase imperfeita do fungo corresponde ao gênero (*Oidium* sp.). Os conídios têm formato de barril, são unicelulares, hialinos, arranjados em cadeias sobre conidióforos curtos, eretos e não ramificados (BEDENDO, 2011).

Os conídios são facilmente disseminados pelo vento e até mesmo respingos de água, mesmo sobre condição de umidade relativa muito baixa podem germinar e infectar a planta (PAVAN, 1997). Sua infecção ocorre quando o conídio atinge a folha, o oídio requer umidade elevada, em torno de 95% para germinar, no entanto se ocorrer formação de filme de água sobre a folha os conídios não germinaram. A colonização se dá por meio da formação do haustório sobre as células da planta (BEDENDO, 2011).

Os sintomas se inicia com um crescimento branco pulverulento, formado por micélios, conidióforos e conídios do fungo ocupando pequenas áreas, sendo visíveis na parte superior das folhas (BEDENDO, 2011).

O agente causal da doença é um fungo parasita obrigatório, ou seja, que dependem do hospedeiro vivo para seu crescimento e reprodução, sua sobrevivência, entre estações de cultivo, ocorre em plantas voluntárias, plantas cultivadas em estufas e outras cucurbitáceas cultivadas ou silvestres. Para sua reprodução e sobrevivência, o patógeno forma haustório no interior das células do hospedeiro, onde retira os nutrientes necessários, sem que ocorra a morte das mesmas (STADNIK; KOBORI; BETTIOL, 2001).

O oídio das cucurbitáceas são geralmente favorecidos por umidade elevada próxima a 95%, porém seus conídios não germinam quando sob a superfície foliar é formado um filme de água. A doença ocorre em regiões úmidas e de clima frio, sendo predominante em clima tropical e subtropical, onde é favorecida pelos

ambientes secos e quentes, com temperatura em torno de 20 a 25 °C (STADNIK; KOBORI; BETTIOL, 2001).

O controle químico do oídio em cucurbitáceas é o método mais empregado, embora esses produtos sejam muito eficientes, o uso exagerado resulta em danos ambientais e seleção de patógenos resistentes a estes produtos (FRANZENER et al., 2007).

Um método alternativo ao uso de fungicidas no controle de oídio, é a utilização de extratos de plantas medicinais (STANGARLIN et al., 2008).

Uma das características favoráveis de extratos vegetais é que geralmente exercem atividade antimicrobiana direta sobre o agente patogênico ou induzindo mecanismos de defesa nas plantas tratadas (SILVA & RESENDE, 2001). Em virtude das plantas produzirem vários compostos orgânicos conhecidos como metabólitos secundários, que possuem ação fungicida ou fungistática (TAIZ & ZEIGER, 2013).

3.3 CONTROLE ALTERNATIVO DE DOENÇAS EM PLANTAS

Os métodos de manejo para o controle do oídio mais empregados são o uso de variedades resistentes, o controle químico, o controle biológico, o manejo adequado da cultura, os métodos alternativos, entre outros (BETTIOL, 1991; STADNIK, 2001; BEDENDO, 2011).

Dentre esses, o controle químico ainda é o método mais utilizado. Os fungicidas recomendados para o controle do oídio, são os de contato a base de enxofre, e os sistêmicos (fenarimol, triazol, benzimidazol, ditiocarbamato, estrobirulina, isoftalonitrila, anilida, primidinil carbinol, imidazol (AGROFIT, 2016).

Atualmente, as estrobilurinas sintéticas e os fungicidas que inibem a biossíntese de ergosterol geralmente são usados para controlar o oídio (CHOI et al., 2004).

Os fungicidas utilizados para o controle de doenças fúngicas em plantas e frutos estão entre os principais contribuintes para o uso abusivo de agrotóxicos e a contaminação de alimentos e do ambiente (SCHWAN-ESTRADA et al., 2003).

Um dos enfoques da agricultura agroecológica é o controle alternativo de doenças, o qual envolve o controle biológico, a indução de resistência em plantas e, o uso de produtos naturais que apresentem atividade antimicrobiana e/ou indutora de resistência (STANGARLIN et al., 2008).

Como alternativa no controle de doenças em plantas tem sido empregado com sucesso óleos essenciais ou extratos de plantas medicinais (SILVA et al., 2012).

Com o objetivo de encontrar uma alternativa de controle para a doença, Brum (2012) testou óleos essenciais de plantas medicinais, concluindo que os óleos de capim-limão (*Cymbopogon citratus*), citronela (*Cymbopogon nardus*), erva-cidreira (*Lippia alba*), hortelã-pimenta (*Mentha piperita*) e nim (*Azadirachta indica*) atuam na redução da severidade da antracnose do sorgo. Outro estudo sobre o efeito de plantas medicinais sobre fungos fitopatogênicos, executado por Tagami et al. (2009), divulgou que o extrato isolado de tomilho (*Thymus vulgaris*) reduziu em até 97% o crescimento de *Colletotrichum graminicola*.

Ferreira (2013) avaliou o uso de extratos de folhas de erva-cidreira (*Melissa officinalis*) e de sementes de graviola e observou efeito inibitório do crescimento micelial do patógeno *C. gloeosporioides*, agente causal da antracnose do mamoeiro, indicando que os extratos apresentaram potencial no controle do patógeno.

Carneiro (2003) constatou que o óleo de sementes de nim (*A. indica*), mesmo em concentrações menores foi eficiente no controle do oídio do tomateiro.

Flores (2013) ao utilizar diferentes tipos de extratos vegetais no controle de podridão parda (*Monilinia fructicola*) em pêsego, observou que as espécies de brássicas reduziram a produção e a germinação de esporos do fungo em pós-colheita de pêsegos.

3.3.1 Indução de resistência

Outro método utilizado no controle alternativo para promover a redução da severidade de doenças em diversas culturas, têm sido a indução de resistência. Esta indução pode ser eficaz sob diversos patógenos, incluindo vírus, bactérias e fungos, onde os estímulos podem ser tanto de natureza biótica quanto abiótica (BONALDO et al., 2004).

O mecanismo de resistência da planta em resposta ao ataque de um patógeno é determinado como sendo a capacidade da planta em atrasar ou evitar a entrada de um microrganismo em seu interior (PASCHOLATI, 1995).

Os mecanismos de resistência das plantas são divididos em duas categorias: mecanismos de defesa pré e pós-formados. Onde os fatores de resistência pré-formados, é a própria resistência natural de plantas à patógenos baseia-se em

barreiras e mecanismos de defesa já existentes, independente da chegada do patógeno ao sítio de infecção. Já no caso dos pós-formados estes permanecem inativos ou latentes, sendo acionados ou ativados após serem expostos a presença dos patógenos (PASCHOLATI, 1995).

Em ambas as categorias, os fatores ainda são subdivididos em mecanismos que podem ser estruturais, que atuam como barreiras físicas ou bioquímicas. As reações bioquímicas que ocorrem na célula do hospedeiro, corresponde a produção de substâncias tóxicas ao patógeno ou então, criando condições desfavoráveis para seu crescimento na planta (PASCHOLATI, 1995).

Dentre os fatores de resistência bioquímicas destacam-se nos pré-formados (passivos ou constitutivos), os compostos fenólicos, alcalóides glicosídicos, lactonas insaturadas, glicosídeos fenólicos e cianogênicos, inibidores proteicos, quitinases e β 1,3 glucanases. Assim como nos pós-formados (ativos ou induzíveis), as fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese e espécies ativas de oxigênio.

As plantas possuem também enzimas associadas aos mecanismos de defesa, como as peroxidases e a fenilalanina amônia-liase, sendo estas enzimas chaves nos metabolismos primário e secundário dos vegetais (STANGARLIN, 2011).

3.4 *Rumex crispus*

As espécies do gênero *Rumex*, pertencentes a família Polygonaceae, compõem cerca de 200 espécies amplamente distribuídas na Europa, Ásia, África e América do norte (VASAS et al., 2015).

Espécie com caule liso e cilíndrico, medindo de 60 a 150 cm de altura, é uma planta que se reproduz por semente e por profundos rizomas (LORENZI, 1991). Folhas são alternadas, inteiras, glabras, com as margens irregularmente sinuosas ou onduladas, medindo de 10 a 25 cm de comprimento. Folhas do eixo da inflorescência mais estreitadas. Inflorescência terminal e axilar do tipo cacho, constituído por numerosas flores (LORENZI, 1991).

A espécie *R. crispus*, são conhecidas por produzir uma grande quantidade de metabólitos secundários biologicamente importantes, tais como antraquinonas, naftalenos, stilbenóides, esteróides, flavonóides, glicosídeos, leucoantocianidinas e ácidos fenólicos (JANG et al., 2005; LIANG et al., 2010).

As antraquinonas são consideradas marcadores taxonômicos importantes da família Polygonaceae, especialmente emodin, crisofanol e physcion. Outro tipo específico de compostos isolados de espécies vegetais pertencente a essa família é o grupo de naftalenos, nepodin e seu glucósido, torachrysona e seu glicosídeo, foram identificados especialmente nas raízes da planta. Entre os compostos fenólicos flavonóides, stilbenoides e taninos (VASAS et al., 2015).

As partes aéreas, folhas e raízes das plantas de *Rumex acetosa*, *Rumex crispus*, *Rumex patientia* e a *Rumex aquaticus* são utilizadas na medicina tradicional para o tratamento de várias doenças causadas por diferentes microrganismos (por exemplo, doenças dermatológicas relacionadas com bactérias, disenteria e enterite) (VASAS et al., 2015). Ainda segundo os mesmos autores para além da sua utilização em fitoterapia, algumas espécies, do gênero *Rumex* são comestíveis, sendo consumidas cruas em saladas ou cozidas sob a forma de puré, ou ainda como ervas aromáticas em sopas e temperos.

Algumas das espécies são cultivadas, como *R. acetosa* e *R. vesicarius*, enquanto que outras são ervas invasivas, *R. obtusifolius* e *R. crispus*, onde ocupam áreas com lavouras, áreas olerícolas, pastagens, terras abandonadas e margens de rodovias, entre outras, onde forma populações densas (LORENZI, 1991).

4. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no laboratório de Fitopatologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Laranjeiras do Sul – PR, e na casa de vegetação localizada na área experimental da instituição. O município de Laranjeiras do Sul, esta localizado a 25°40' de latitude Sul, 52°42' de latitude Oeste, e altitude de 841 metros. A temperatura média anual em Laranjeiras do Sul é 17.4 °C. Tem uma pluviosidade média anual de 1800 mm.

4.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO

A *R. crispus* (azedada-crespa) foi utilizada na forma de extrato aquoso, obtida em áreas de ocorrência espontânea no município de Laranjeiras do Sul/PR. Para tanto, folhas frescas de cada planta foram coletadas, pesadas e trituradas em liquidificador com água destilada por 30 segundos, na proporção de 15 g de material vegetal em 100 mL de água. Este extrato foi filtrado em gaze e em papel de filtro e,

em seguida utilizado no ensaio experimental. O extrato aquoso com 15% de material vegetal foi obtido, e a partir, preparadas as demais concentrações de 1, 5, 10%, tendo água como testemunha (Figura 1),.

Figura 1. Planta *Rumex crispus* utilizada nos ensaios.



4.2 OBTENÇÃO DO INÓCULO

Por se tratar de um fitopatógeno biotrófico, o fungoóidio foi mantido em plantas de pepino. A identificação foi realizada através de características morfológicas em microscópio óptico.

4.3 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

Para avaliação da atividade antifúngica de *R. crispus* sobre o agente causal do oídio, foi adicionada sobre lâminas de microscopia uma fina camada de meio ágar-água 2%, contendo as concentrações de 1, 5, 10 e 15% do extrato aquoso. e água como testemunha, sobre esse meio de cultura os esporos do fungo foram dispostos com auxílio de um pincel a partir de folhas infectadas. As lâminas foram mantidas em placas de Petri contendo papel de filtro umedecido. Após 20 horas realizou-se a avaliação. Para tanto cada parcela recebeu 10 μ L de azul algodão de lactofenol para paralisar a germinação. A porcentagem de esporos germinados por parcela foi avaliada em microscópio óptico.

4.4 EXPERIMENTO DE PROTEÇÃO EM PLANTAS E PLÂNTULAS

Para avaliar a severidade do oídio em planta de pepino foram conduzidos dois bioensaios, um em plantas e outro com plântulas. Em ambos os bioensaios foi utilizada as sementes da variedade de pepino tipo conserva híbrido Pioneiro, adquiridas no comércio local do município de Laranjeiras do Sul, Paraná.

Para o experimento em plantas, as mudas foram produzidas em bandejas de isopor com capacidade para 128 células, contendo substrato comercial Plant Max[®] sendo uma plântula por repetição, com cinco repetições e quatro tratamentos nas concentrações de 1, 5, 10 e 15%, tendo água destilada como testemunha, este experimento foi mantido sobre condições ambiente na casa de vegetação. Duas semanas após a semeadura as mudas foram transplantadas para vasos com capacidade de 1,5 litros contendo mistura de solo, areia e composto orgânico na proporção de 2:1:1.

Quando as plantas apresentavam duas folhas expandidas foi realizada a aplicação dos extratos por aspersão, com auxílio de um borrifador com capacidade de 350 mL, até o ponto de escorrimento.

Depois de três dias da aplicação dos extratos, três vasos com duas plantas de pepino com alta severidade do oídio foram distribuídos na unidade experimental. A irrigação das plantas foi feita com auxílio de regador de forma manual, tomando cuidado para molhar apenas a raiz das plantas, para que não ocorresse a lavagem da superfície das folhas.

Para o bioensaio em plântulas, foi realizada a semeadura em bandejas conforme descrito anteriormente utilizando uma plântula por repetição, com cinco repetições e quatro tratamentos nas concentrações de 1, 5, 10 e 15%, tendo água destilada como testemunha. A aplicação do extrato se deu sete dias após a semeadura, já com os dois cotilédones expandidos, onde as mesmas permaneceram na bandeja e receberam os tratamentos.

As avaliações de severidade para planta e plântula iniciaram, após o aparecimento dos sintomas da doença.

Foram realizadas duas avaliações para cada bioensaio baseadas na escala de notas, descrita por Azevedo (1999), sendo 0=ausência de sintomas; 1=1-10% de área lesionada; 3=11-15% de área lesionada; 5=16-25% de área lesionada; 7=26-

40% de área lesionada. Em seguida, com os valores médios dessas avaliações, foram estimados os valores de severidade do oídio.

Após a avaliação da severidade da doença foi realizada a avaliação da esporulação do fungo nas plântulas. Para tanto, os cotilédones de cada repetição foram coletados e transferidos para frasco contendo 5 mL de água destilada. O material foi mantido sob agitação por dois minutos. Em seguida foi transferida uma alíquota para câmara de Neubauer para quantificação dos esporos.

4.5 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

Para avaliação da atividade de mecanismos relacionados à defesa, foram conduzidos bioensaios em bandejas de isopor com capacidade para 128 células contendo substrato comercial Plant Max[®]. No primeiro experimento, foi utilizado duas plântulas por repetição, sendo cinco repetições e quatro tratamentos nas concentrações de 1, 5, 10 e 15%, tendo água destilada como testemunha, porém foram utilizados apenas dois cotilédones por repetição, sendo este escolhido de forma aleatória. Este experimento foi conduzido da seguinte forma, após setes dias da semeadura as plântulas foram tratadas por aspersão com o extrato de *R. crispus*, sendo os cotilédones coletados após 72 horas para análises bioquímicas. No segundo bioensaio, duas plântulas por repetição sendo cinco repetições e quatro tratamentos foram tratadas com a concentração de 15% do extrato, tendo água destilada como testemunha. No momento da realização dos tratamentos, bem como 24, 48, 72 e 96 horas após os tratamentos foram coletados os cotilédones para análises bioquímicas. As amostras foram armazenadas a -20 °C.

Por conseguinte, as amostras de tecido foliar, coletadas e armazenadas, foram maceradas em 4 mL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0) contendo 1% (p/p) de PVP (polivinil-pirrolidona), em almofariz de porcelana. O homogeneizado foi centrifugado a 14.500g durante 20 min a 4°C. O sobrenadante obtido, considerado como extrato enzimático, foi utilizado para a determinação da atividade enzimática. Todo material empregado ficou mantido sob refrigeração.

4.5 1 Atividade de Peroxidases

A atividade de peroxidases nas amostras foram determinadas conforme metodologia proposta por Lusso e Pascholati (1999). Para tanto, a mistura foi

constituída 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 ser 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^{-1} mg proteína $^{-1}$.

4.5 2 Atividade de Polifenoloxidasas

A atividade das polifenoloxidasas foram determinadas conforme a metodologia proposta por Duangmal e Apenten (1999). Para tanto, o substrato para enzima foi composto por catecol, na concentração de 20 mM, dissolvido em tampão fosfato de potássio 100 mM (pH 6,8). A reação foi conduzida misturando-se 900 μL do substrato e 100 μL do extrato enzimático seguida de leituras em espectrofotômetro, a 420 nm. As leituras foram realizadas de forma direta por um período de 2 min. Os resultados foram expressos em absorvância min^{-1} mg de proteína $^{-1}$.

4.5 3 Conteúdo de proteínas totais

O conteúdo de proteínas totais foi determinado pelo método de Bradford (1976). Para isso, foram homogeneizados 600 μL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0), 200 μL do extrato enzimático e 200 μL de reagente de Bradford (250 mg de corante Coomassie Brilliant Blue G-250, 125 mL de ácido fosfórico (H_3PO_4) e 125 mL de água destilada). A determinação do conteúdo de proteínas foi realizada através da leitura da absorvância a 595 nm em espectrofotômetro. Cada amostra foi formada por três réplicas. A cubeta de referência foi constituída de 800 μL de tampão fosfato 0,01 M (pH 6,0) e 200 μL do reagente. A absorvância foi plotada em curva padrão para proteína. Os resultados foram expressos em mg proteína $^{-1}$ mL amostra $^{-1}$.

4.5 4 Atividade de Fenilalanina amônia-liase (FAL)

A atividade de fenilalanina amônia-liase foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Umesha (2006), na qual 100 μL do extrato enzimático foi acrescidos de 400 μL de tampão Tris-HCl 0,025 M (pH 8,8) e 500 μL de solução de fenilalanina 0,05 M (825,9 mg diluído em 100 mL de tampão Tris-HCL 0,025 M (pH

8,8)). A mistura foi incubada a 40°C durante 2 h. Ao final desse período foi adicionado 60 µL de HCl 5 M para cessar a reação, seguindo-se a leitura em espectrofotômetro a 290 nm. Sendo expressa em mg de ácido trans-cinâmico h⁻¹ mg proteína⁻¹.

4.6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

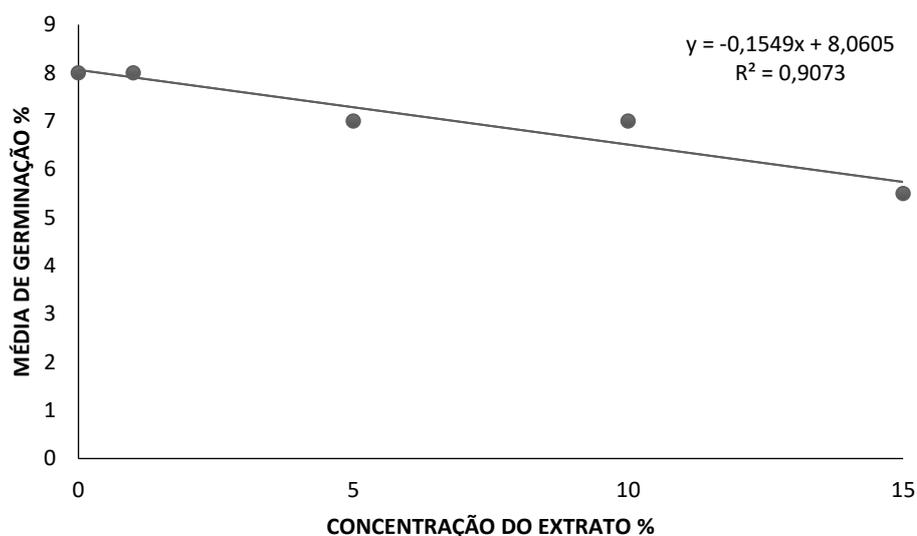
Todos os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizados com quatro repetições para a avaliação de atividade antifúngica e cinco repetições para análise da proteção em plântulas e plantas. Tratamentos contendo apenas água destilada foram utilizados como testemunhas em todos experimentos. Os resultados foram submetidos à análise de variância e análise de regressão com auxílio do sistema computacional SISVAR (FERREIRA, 2007).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ATIVIDADE ANTIFÚNGICA

A porcentagem de germinação de esporos do oídio foi reduzida com o aumento na concentração do extrato aquoso de *R. crispus*, com inibição de 31,3% na germinação na concentração de 15% do extrato aquoso (Figura 2). Esse resultado indica efeito antifúngico sobre o oídio pelo extrato de *R. crispus*.

Figura 2 - Porcentagem de germinação de conídios do oídio por diferentes concentrações do extrato aquoso de *Rumex crispus*.



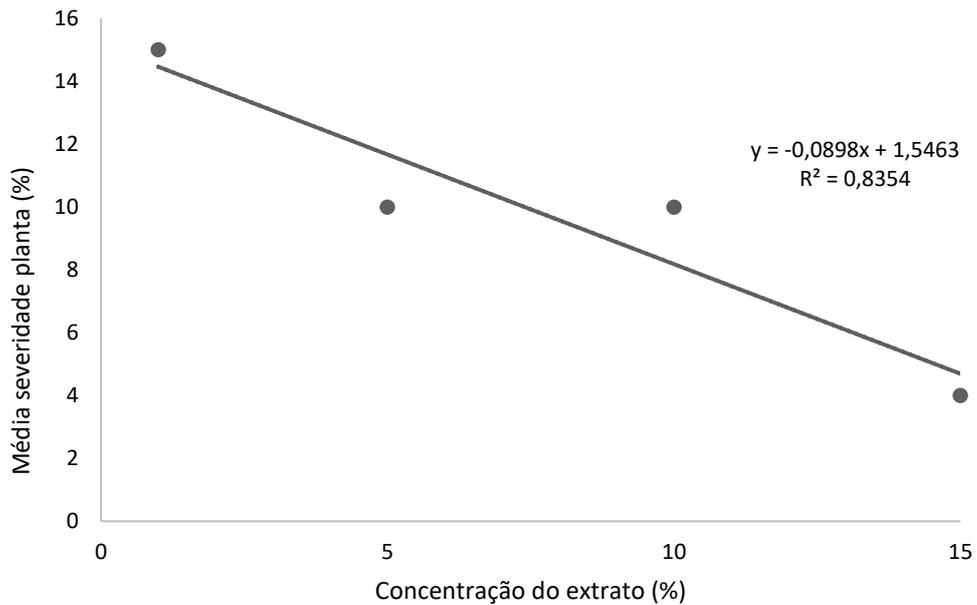
BONALDO et al. (2004) em estudo com extratos aquosos de eucalipto, para inibir o patógeno *Colletotrichum lagenarium*, agente causal da antracnose em planta de pepino, constataram que a partir de 5% o extrato aquoso autoclavado inibiu em mais de 90% a germinação de esporos. Para o extrato não autoclavado, a inibição máxima foi de 75%. Concluíram assim que o extrato de eucalipto tem potencial no controle da doença.

Oliveira et al. (2011) em estudo com extratos de plantas medicinais, avaliaram o efeito da azeda-crespa, sobre a germinação do fungo *Colletotrichum gloeosporioides* e sobre *C. musae*, onde observaram que nas concentrações de 1 e 10% houve significativa redução da germinação de ambos os fungos em relação a testemunha. Os autores sobressaltaram a importância de plantas espontâneas medicinais no controle de fitopatógenos.

5.2. PROTEÇÃO DE PLANTAS PLÂNTULAS

A porcentagem de severidade do oídio em plantas de pepineiro pelo tratamento com extrato bruto de *R. crispus* (Figura 3) foi reduzida em até 73,3% com o aumento na concentração do extrato indicando que o extrato possui efeito direto sobre a severidade da doença, principalmente em maiores concentrações.

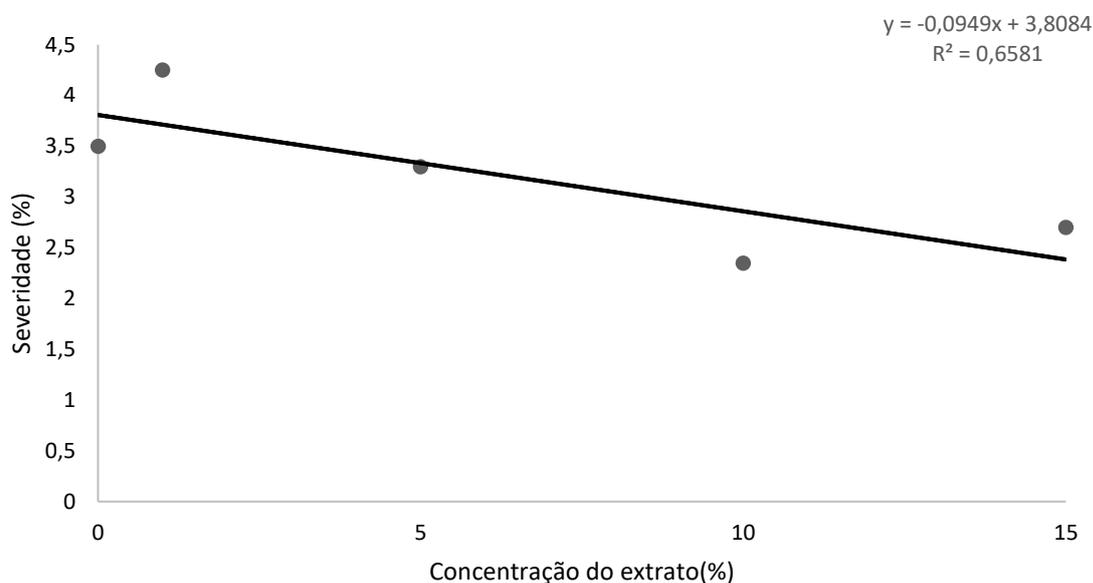
Figura 3 - Porcentagem da severidade do oídio em planta de pepino tratadas com diferentes concentrações do extrato aquoso de *R. crispus*.



Em plântulas de pepineiro foram obtidos resultados semelhantes, embora menos expressivos, com redução de 23,0% na severidade na concentração de 15%. A porcentagem de severidade do oídio em plântulas foi reduzida com o aumento na concentração do extrato indicando que o extrato possui efeito direto sobre a severidade da doença, principalmente em maiores concentrações (Figura 4).

Uma das hipóteses para a eficácia apresentada pelo extrato de *R. crispus* para o controle de oídio em plantas de pepino é devido a capacidade das plantas dessa espécie produzir compostos oriundos do metabolismo secundário, como antraquinonas, naftalenos, stilbenoides, esteróides, flavonóides, glicosídeos, leucoantocianidinas e ácidos fenólicos (JANG et al., 2005; LIANG et al., 2010). Sendo estes compostos agente de defesa contra patógenos e indutores de resistência.

Figura 4 - Porcentagem da severidade de oídio em cotilédones de pepino tratados com diferentes concentrações do extrato aquoso de *Rumex crispus*.



Testes realizados por Belan et al. (2013) demonstraram que ao utilizarem os tratamentos tebuconazole, oxiclóreto de cobre, enxofre inorgânico, fosfito de cobre, extrato à base de óleo de nim, acibenzolar-S-metil, silicato de potássio, urina de vaca e leite in natura todos os tratamentos foram eficientes no controle da doença na cultura do pepino, houve efeito significativo na redução da severidade do patógeno.

Piva (2012) ao utilizar diferentes formas de extração de pó de canola, aquoso, alcoólico, infusão e maceração, destacou como melhor controle o extrato maceração na concentração de 12%, com redução de mais de 50% de incidência e mais de 90% de severidade do oídio em planta de pepineiro.

Dados semelhantes foram obtidos também em pesquisa realizada por Heck et al. (2012), testando o uso de extratos de pó de canola no controle de oídio em pepino, encontraram menor severidade da doença em três épocas de aplicação, 24 horas antes da inoculação, 24 horas após a inoculação e no aparecimento dos primeiros sintomas com o uso de extrato de pó de canola a 12%. No primeiro cultivo o controle foi de 93,81%, 92,34% e 88,32%, respectivamente, para cada época de aplicação. Já no segundo cultivo encontraram um controle de 97% para a aplicação 24 horas antes e 24 horas após a inoculação, e acima de 90% para o aparecimento dos primeiros sintomas.

Faria et al. (2011) realizaram ensaios com produtos alternativos no controle do oídio (*Oidium* spp.) em pepino partenocárpico (“pepino japonês”), constataram que o óleo de nim teve um elevado nível de controle do patógeno onde obtiveram resultado de 36,8%, superior até ao obtido pelo fungicida utilizado (azoxistrobin: 27,8%). Ao autores afirmaram com os resultados que obtiveram, que óleo de nim pode ser condicionado como um produto alternativo para o controle de oídio em cultivo protegido.

Belan et al. (2013) ao avaliar o extrato comercial a base de óleo de nim e leite *in natura*, no controle do oídio, constatou que ambos foram eficientes, com apenas 0,19 % de severidade ao final das avaliações.

Cristofel et al. (2013) utilizando extratos aquosos de plantas medicinais a 5% e tinturas etanólicas em diluição 1/10 de 12 plantas medicinais no controle, de oídio em pepino, antracnose em pimentão e mofo-cinzento em morango, concluíram que os extratos de rubim e capuchinha e a tintura de alecrim-do-campo, cambara, arnica e capuchinha, se destacaram pela atividade antifúngica sobre os fitopatógenos. Já para proteção de pseudofrutos de morango os tratamentos que se destacaram foi o extrato de dente-de-leão, capuchinha, rubim e tintura de alecrim-do-campo. E para plântulas de pepino se destacou o extrato de azeda crespa (*R. crispus*) com redução de 86,1% na severidade do oídio. Portanto os autores concluem que o extrato de azeda crespa possui potencial no controle de oídio.

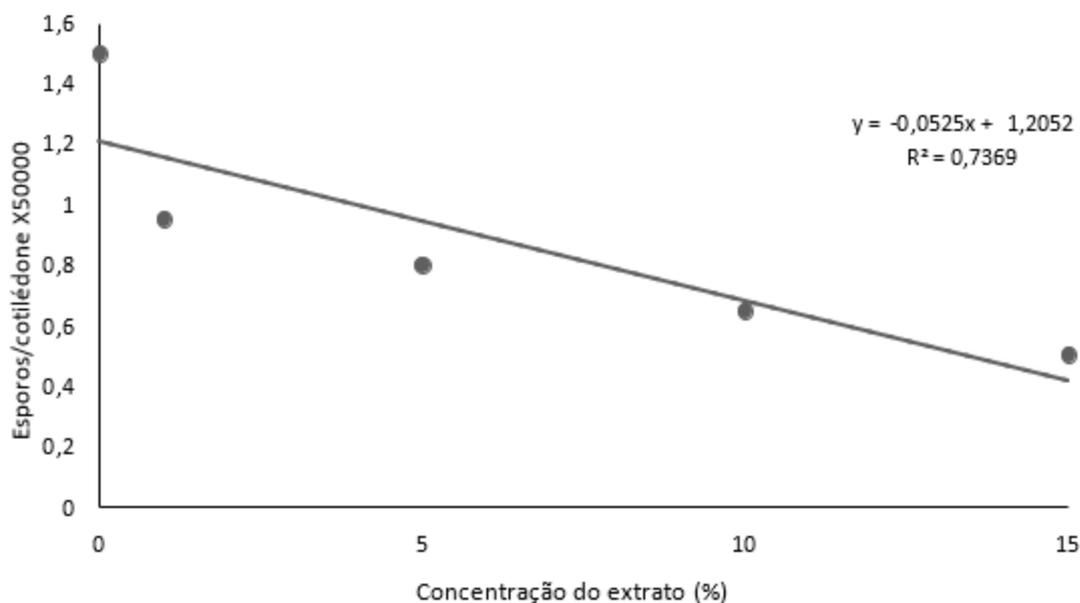
De acordo com Choi et al. (2004) ao utilizarem isolados a partir de raízes de *R. crispus* identificaram, três substâncias antraquinonas, sendo crisofanol, parietina e nepodina, onde verificou a redução no desenvolvimento do oídio da cevada. Essas substâncias mostraram atividade curativa e protetora contra o oídio da cevada em câmaras de crescimento e estufas. Das três substâncias purificadas a partir de *R. crispus*, a parietina foi a mais ativa contra os fungos de oídio e foi tão eficiente no controle da doença como o fungicida sintético fenarimol, em concentrações semelhantes.

5.3. EFEITO NA ESPORULAÇÃO

Na (Figura 5) observa-se que o extrato aquoso promoveu redução linear na produção de esporos do oídio em cotilédones tratados. Esses resultados demonstram efeito inibitório na germinação do patógeno. Esse efeito pode ser

importante para reduzir o progresso da doença durante o desenvolvimento da cultura.

Figura 5 - Número de esporo de oídio em cotilédones de pepino tratados em diferentes concentrações do extrato aquoso de *R. crispus*.



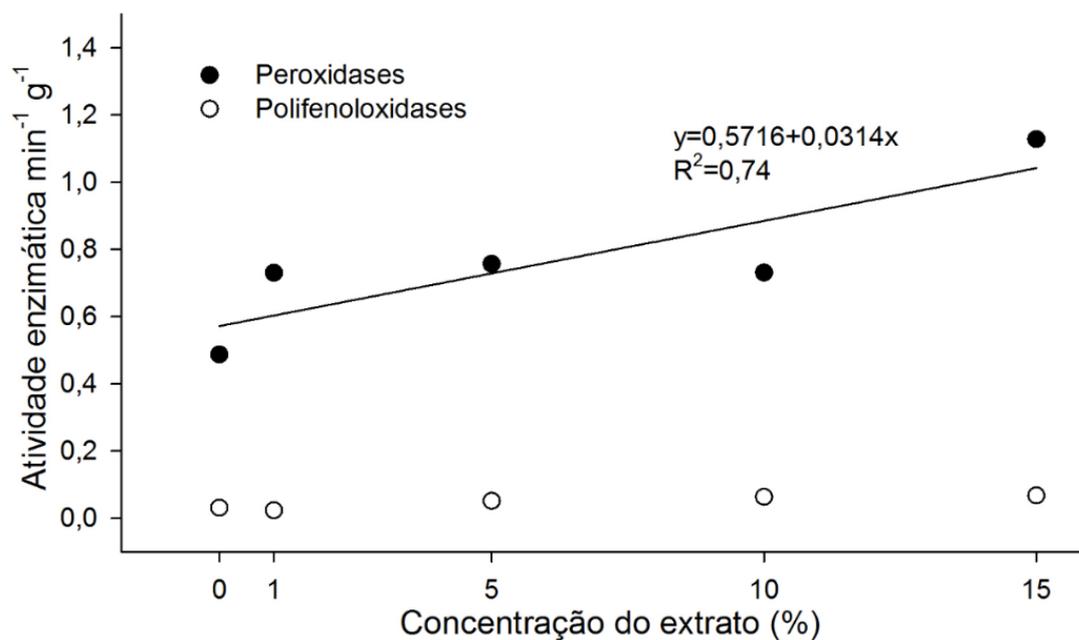
O controle do oídio obtido foi devido à ação direta dos extratos de *R. crispus* sobre o patógeno, que interferiu no desenvolvimento do fungo por causa dos compostos voláteis produzidos pelo metabolismo secundário dessa planta.

5. 4 ANÁLISES BIOQUÍMICAS

As enzimas peroxidases e polifeniloxidasas, lideram a degradação oxidativa de compostos fenólicos, o quais muitos agem como componente de defesa celular, atuam em vias de sinalização de rotas de defesa vegetal (BARROS et al., 2010).

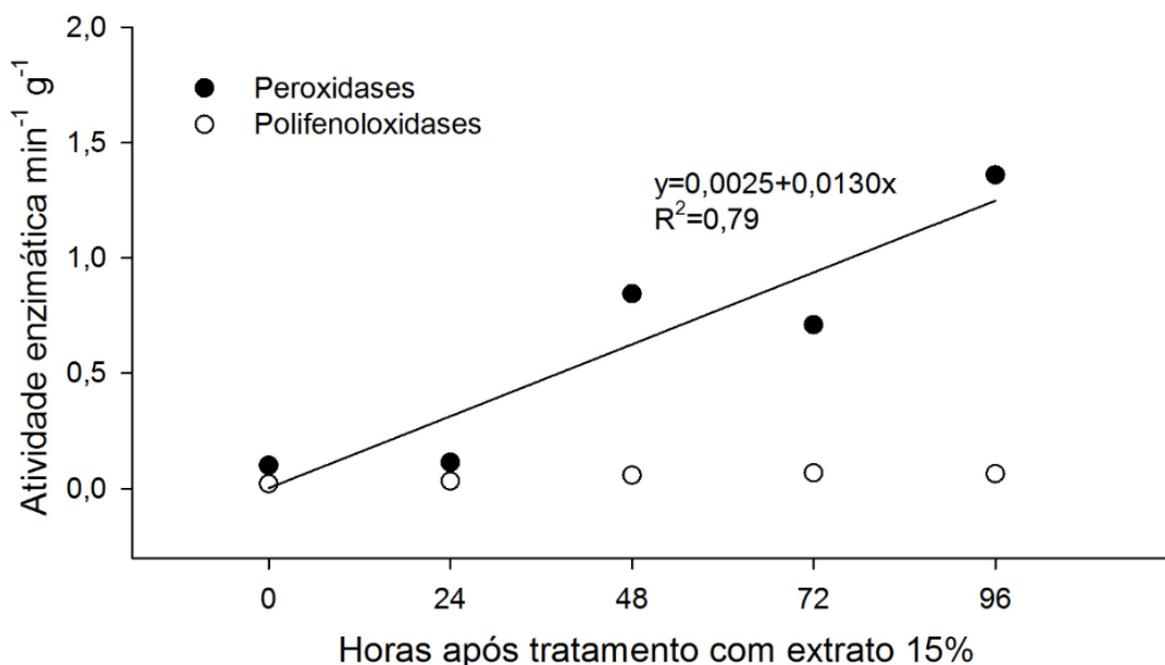
Houve incremento na atividade da enzima peroxidases com o aumento na concentração do extrato bruto de *R. crispus*. Essa atividade foi maior com o aumento na concentração do extrato, comparado com a testemunha, indicando efeito dosedependente (Figura 6).

Figura 6 - Atividade de peroxidases e polifenoloxidasas em cotilédones de plântulas de pepino tratadas com diferentes concentrações do extrato aquoso de *R. crispus*.



Em relação a atividade de peroxidases e polifeniloxidase em diferentes períodos após o tratamento com extrato, pode-se observar que também houve incremento linear para a peroxidases até 96 horas após os tratamentos (Figura 7).

Figura 7 - Atividade de peroxidases e polifenoloxidasas relacionadas à defesa em cotilédone de pepino em diferentes períodos após o tratamento com extrato aquoso de *R. crispus*.



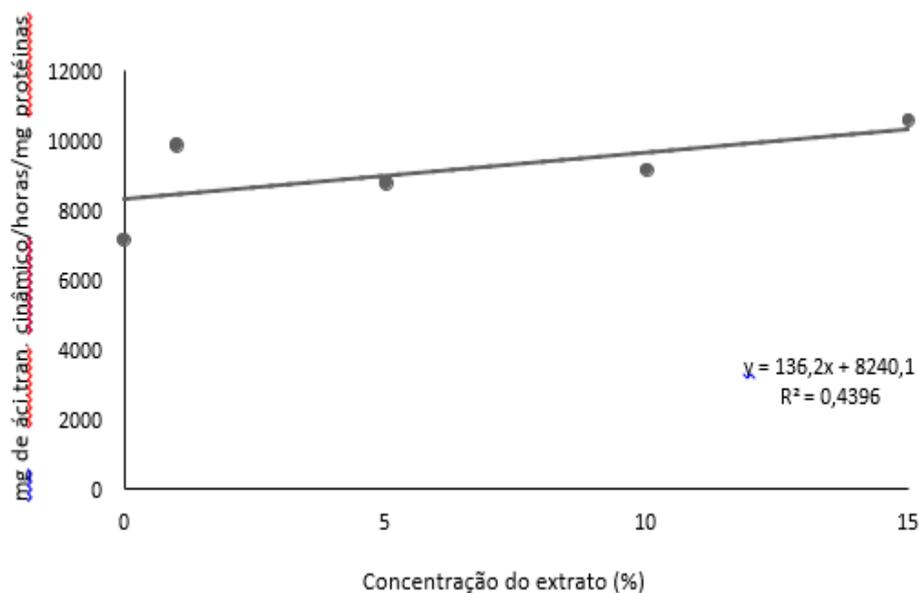
Ueda et al. (2008) ao avaliarem o bioensaio com plantas de pepino, constataram, aumento significativo da atividade local de peroxidase (2ª folha), nas doses de 0,5 e 5 ppm, após o intervalo de indução de quatro dias, antes da inoculação com o *C. cassicola* sendo que a dose de 0,5 ppm proporcionou a melhor resposta.

Franzener (2011), em seus estudos observou que o extrato aquoso de eucalipto (EA) induziu aumento da atividade de peroxidase em pepino, principalmente, 48 horas após o tratamento. Estes resultados corroboram com os resultados obtidos neste estudo.

Bonaldo et al. (2004) ao utilizarem eucalipto (*Eucalyptus citriodora*) no controle alternativo de antracnose em pepino observaram que o intervalo de tempo entre a aplicação do indutor e a inoculação do patógeno, 48 h foi o tempo que permitiu maior redução no tamanho das lesões, quando comparado com os tempos de 0, 24 e 72 h. Onde puderam concluir que o extrato de eucalipto é um agente potencial para o controle da antracnose em pepino, tanto por sua atividade antifúngica direta quanto pela capacidade de indução local de resistência.

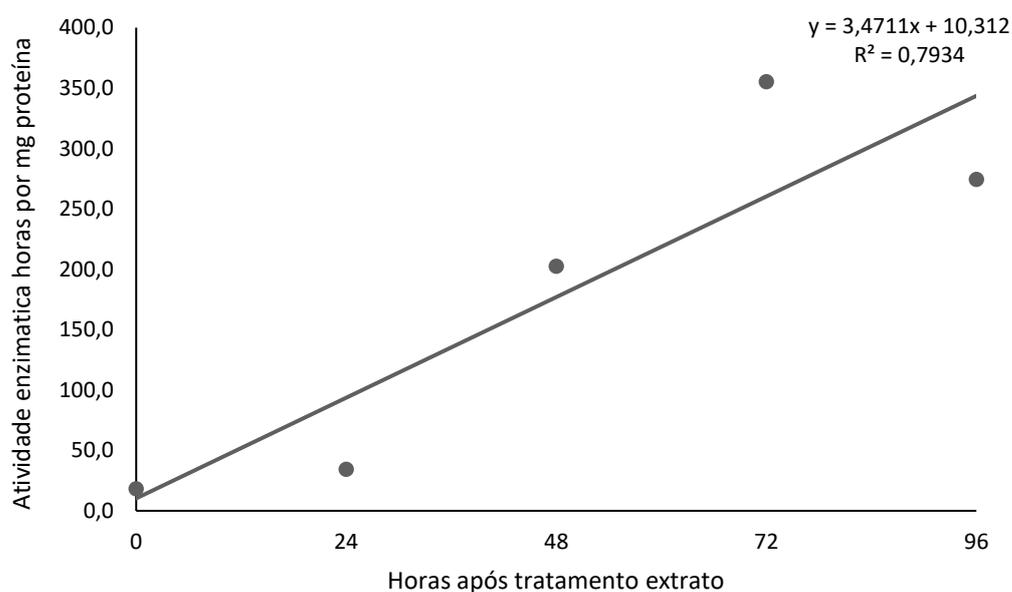
Para a atividade da enzima fenilalanina amônia-liase por diferentes concentrações do extrato aquoso de *R. crispus* foi observada diferença linear significativa na a atividade dessa enzima (Figura 8).

Figura 8- Atividade de fenilalanina amônia-liase em cotilédones de pepineiro nas concentrações de 1, 5, 10 e 15%, do extrato aquoso de *R. crispus*.



Quanto ao efeito sobre a atividade da enzima fenilalanina amônia-liase após diferentes períodos, após a realização dos tratamentos foi também observado aumento linear significativo na atividade com o período de tratamento (Figura 9).

Figura 9 - Atividade de fenilalanina amônia-liase em cotilédones de pepineiro por diferentes períodos após o tratamento com 15% extrato aquoso de *R. crispus*.



A fenilalanina amônia-liase é uma enzima que está envolvida diretamente com o metabolismo primário e secundário, e a reação que ela catalisa é uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos, é responsável pela desaminação da L-fenilalanina, transformando-a em ácido trans-cinâmico e amônia. O ácido trans-cinâmico pode ser incorporado em muitos diferentes compostos fenólicos envolvidos em mecanismos de defesa, tais como lignina, flavonóides (antocianinas), fitoalexinas e o ácido salicílico (EMILIANI et al., 2009;TAIZ & ZEIGER, 2009).

A formação de fenilalanina amônia liase é induzida em resposta a diferentes estímulos de estresse, como irradiação UV, ataque patogênico, baixos níveis de nitrogênio, fosfato ou ferro (DIXON & PAIVA, 1995).

Piva (2013), ao trabalhar com extratos de canola e própolis no controle de oídio em pepineiro, ao fazer uso do extrato preparado por maceração verificou aumento da enzima fenilalanina amônia-liase nos tempos de 72h e 144h.

Guleria & Kumar (2006) avaliaram o efeito do extrato aquoso de folhas de *nim* aplicado em gergelim para o controle de *Alternaria*, onde sugerem, que o extrato induzia atividade das enzimas peroxidases e fenilalanina amônia-liase, protegendo a planta do patógeno, isso decorrente do aumento da biossíntese e o metabolismo dos fenóis. Os autores observaram que os maiores valores para fenilalanina amônia-liase e compostos fenólico estão compreendidos entre 24 e 72 horas após a aplicação do extrato. O que vem de encontro com os resultados deste trabalho. Os mesmos autores afirmam que a redução da atividade da enzima após estes tempos pode ser devido a algum mecanismos que regula a sensibilidade das células para componentes bioativos presentes nas folhas de *nima*quoso extrair depois de algum tempo.

Di Pieiro (2003) notou que a resistência sistêmica adquirida, pode ter influenciado no intervalo do tempo entre a aplicação e o controle da doença, informa que este fenômeno leva um tempo mínimo para ocorrer, tempo esse necessário para geração e translocação de sinais até as partes da planta que não foram diretamente tratadas.

De acordo com Coruh et al. (2008) a variabilidade na atividade da enzima pode ser devido a espécies de plantas utilizadas, fatores ambientais e período de coleta. Outra hipótese a ser levantada é mudanças dependentes do tempo na

atividade da enzima, como foi observado por Guleria & Kumar (2006), onde os maiores valores para fenilalanina amônia-liase e compostos fenólico estão compreendidos entre 24 e 72 horas após a aplicação do extrato. De acordo com Ghasemzadeh et al. (2016), a idade da planta também interfere no acúmulo de metabólitos secundários.

Quando avaliados os teores de proteínas, não houve diferença significativa entre os tratamentos, tanto nas diferentes concentrações como nos diferentes tempos. O conteúdo médio de proteínas para as diferentes concentrações foi de 30,05 mg/mL.

Uma hipótese levantada para este fato, embora tenha ocorrido aumento na atividades das enzimas peroxidase, fenilalanina e polifenoloxidasas, porém para as proteínas não

Roth et al. (2000) ao estudar os efeitos indutores de resistência do extrato de sementes *Lychnis viscaria* L, sobre tabaco, pepino e tomate demonstraram que a aplicação de extrato aquoso de (*L. viscaria*) em plantas de pepino induziu o aumento da atividade de até 20% da peroxidase e 68% de β -1,3-glucanase, concluindo que o extrato induz mecanismos bioquímicos de resistência na planta.

Di Pieiro (2003) em seu estudo observou que vários indutores biótico e abiótico, aumentaram as atividades de quitinases, peroxidase, β -1,3-glucanase, afirma que o aumento de atividade de uma enzima não está relacionado diretamente com indução de resistência, que este processo é multi-componente.

6. CONCLUSÃO

O extrato de *Rumex crispus* teve efeito direto na germinação de oídio, sendo capaz também de reduzir a severidade da doença em plantas e plântulas de pepineiro.

O extrato também promoveu incremento linear na atividade de peroxidases, fenilalanina amônia-liase, demonstrando o potencial em ativar o metabolismo secundário e defesas de plantas de pepineiro.

REFERÊNCIAS

AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 30 outubro 2017.

AZEVEDO, L.A.S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. UNESP. Jaboticabal-SP. 1999.

BARROS, F. C.et al. Indução de resistência em plantas contra fitopatógenos. :**Bioscience Journal**,v.26, p. 231-239, 2010.

BEDENDO, I. P. **Oídios**. In: AMORIM, L.et al. Manual de Fitopatologia Princípios e Conceitos. 4 ed. Piracicaba: ESALQ, p.473-479, 2011.

BELAN, L. L.et al. Manejo alternativo do oídio na cultura do pepino em ambiente protegido. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias Ambiental**, p. 103- 112, 2013.

BETTIOL, W. **Controle biológico de doenças de plantas**. Jaguariúma: Embrapa – CNPDA, p. 388, 1991.

BONALDO, S.M.et al. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção de pepino contra *Colletotrichum lagenarium*, pelo extrato aquoso de *Eucalyptus citriodora*. **Fitopatologia Brasileira**, p. 128-134,2004.

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

BRUM, R.B.C.S. **Efeito de óleos essenciais no controle de fungos Fitopatogênicos**. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal do Tocantins, Gurupi, p. 135,2012.

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

CARVALHO, A. D. F. et al. **A cultura do pepino**. In: Circular técnica, 113. Brasília: Embrapa Hortaliças, p.1-8, 2013

CERMEÑO, Z.S. **Cultivo de Plantas Hortícolas em Estufa**-biblioteca agrícola litexa, p. 247-261,1978.

CORUH, I.; GORMEZ, A.A; ERCISLI, S.; Total Phenolic Content, Antioxidant, and Antibacterial Activity of *Rumex crispus* Grown Wild in Turkey. **Pharmaceutical Biology**, v. 46, No. 9, p. 634 – 638, 2008.

CHOI, G.J. et al. Efeito do crisofanol, da parientina e da nepodina de *Rumex crispus* em oídio da cevada e pepino. **Crop-Protection-Science direct**, 23(1215-1221), 2004.

CRISTOFEL, J. P. Et al. **Potencial do extrato aquoso e tintura de plantas espontâneas medicinais no controle das doenças fúngicas em plantas cultivadas**. Anais do SEPE - Seminário de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFFS. v. 3. 2013.

DI PIERO, R.M. **Potencial dos cogumelos *Lentinula edodes* (Shiitake) e *Agaricus blazei* (cogumelo-do-sol) no controle de doenças em plantas de pepino, maracujá e tomate, e a purificação parcial de compostos biologicamente ativos**, p. 129 f. Tese (Doutorado em fitopatologia), Curso de pós-graduação em Agronomia, área de concentração fitopatologia, SP- 2003.

DIXON, R. A, PAIVA, N.L. Metabolismo do fenilpropanóide induzido pelo estresse. A célula da planta. **American Society of Plant Physiologists**, v.7, p. 1085-1097, 1995.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R.K.O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) e potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, v.64, p. 351-359, 1999.

EMILIANI, G.; FONDI, M.; FANI, R.; GRIBALDO, A horizontal gene transfer at the origin of phenylpropanoid metabolism: a key adaptation of plants to land. *Biology Direct*, v. 4, p. 1-12, 2009.

FARIA, G. S. et al. Controle de oídio em pepino parternocárpico com produtos alternativos em cultivo protegido. **Summa Phytopathologica**, v.37, n.4, p.205-207, 2011.

FERREIRA, E. F. **Uso de extratos vegetais no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides penz*) em mamoeiro (*Carica papaya L.*)**. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Dissertação. Pós-Graduação em Agronomia, Vitória da Conquista, p.46, 2013.

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

FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças**. 3. ed: Viçosa: UFV, p. 335-341, 2007.

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

FRANZENER, G., et al. Atividades antibacteriana, antifúngica e indutora de fitoalexinas de hidrolatos de plantas medicinais. **Semina: Ciências agrárias**, Londrina, v. 28, p. 28-38, 2007.

GHASEMZADEH, A. et al. Variation in secondary metabolite production as well as antioxidant and antibacterial activities of *Zingiber zerumbet* (L.) at different stages of growth. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. 2016.

GRUTZMACHER, D.D. et al. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, n.6, p.632-637, 2008.

GULERIA, S. & KUMAR, A. Azadirachta indica leaf extract induces resistance in sesame against Alternaria leaf spot disease. **Journal of Cell and Molecular Biology**, v. 5, p. 81-86, 2006

HECK, D. W.; SANTOS, I.; PIVA, C. A. G.; ARRUDA, J. H.; PAZOLINI, K. **Efeito do extrato do pó de canola sobre oídio em pepino**. Disponível em: <<http://conferencias.utfpr.edu.br/ocs/index.php/sicite/2012/paper/view/465/261>> Acesso em 01 out 2017.

JANG,D.S.et al. Triterpenoides tipo 24-nor-Ursane das hastes de Rumex japonicus. **Chem. Pharm.**n 53,1594-1596, 2005.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M.A. Doenças das cucurbitáceas. In: KIMATI, H. et al. (Ed.).

Manual de Fitopatologia. São Paulo: Editora Agronômica Ceres, v.2, p. 307319,1997.

LIU, R. H. Potential Synergy of Phytochemicals In: Cancer Prevention: Mechanism of Action. **The journal of nutrition**. 2004.

LIANG,H.X.et al. Compostos bioativos de plantas *Rumex*. **Letras de fitoquímica**. V 3, Edição 4 , p. 181-184,2010.

LOPES, J.F. I Simpósio Brasileiro sobre cucurbitáceas: Palestra de Abertura.

Horticultura Brasileira, Brasília, v.9, n.2, p.98-99, 1991.

LORENZI, H.; MATOS F. J. A. **Plantas daninhas no Brasil**: terrestre, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. Nova Odessa: Plantarum, p.350,1991.

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**, p. 244-249, 1999.

OLIVEIRA, O.J.F. et al. Potencial do extrato aquoso de plantas medicinais espontâneas para controle alternativo de agentes causais da antracnose. In: VII **Congresso brasileiro de Agroecologia**, Fortaleza. Cadernos de Agroecologia, v.6, n.2, 2011.

PARIS, H. S.; DAUNAY, M. C.; JANICK, J. Occidental diffusion of cucumber (*Cucumis sativus*) 500-1300 CE: two routes to Europe. **Annals of Botany**, v. 109, p. 117-126, 2012.

PASCHOLATI, S. F. Fitopatógenos: arsenal enzimático. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H.; AMORIM, L. (Ed.). **Manual de fitopatologia. Princípios e conceitos**. São Paulo: Ceres, v. 1, p. 343-364, 1995.

PAVAN, M. A.; REZENDE, J. A. M.; KRAUSE-SAKATE, R. Doenças das cucurbitáceas. In.: AMORIM, L. et al. **Manual de Fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 5. ed. Ouro Fino-MG: Agronômica Ceres, 1997.

PIVA, C. A. G. **Extratos de canola e própolis no controle de oídio em pepineiro**. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2013, 91 p. Dissertação. PósGraduação em Agronomia, Pato Branco, 2013.

ROTH, U., FRIEBE, A., SCHNABL, H. Resistance Induction in Plants by a Brassinosteroid-Containing Extract of *Lychnis viscaria* L. **Journal of Biosciences**, v.55, n.7, p.365-367, 2000.

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; CRUZ, M.E.S. Uso de plantas medicinais no controle de doenças de plantas. **Fitopatologia Brasileira**, v.8, p. S54-S56, 2003.

SILVA, L.H.C.P.; RESENDE, M.L.V. Resistência induzida em plantas contra patógenos. In: SILVA, L.H.C.P.; CAMPOS, J.R.; NOJOSA, G.B.A. (Ed.). **Manejo integrado de doenças e pragas em hortaliças**. Lavras: UFLA, p. 221-234, 2001.

SILVA, C. L.; SOUZA, E. B.; FELIZ, K. C. S.; SANTOS, A.; SILVA, M. V.; MARIANO, R. L. R. Óleos essenciais e extratos vegetais no controle da podridão mole em alface crespa. **Horticultura Brasileira**, v. 30 nº4. Oct./Dec. 2012.

STANGARLIN, J.R. et al. Controle de doenças de plantas por extratos de origem vegetal. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.16, p.265-304, 2008.

STADNIK, M. J.; KOBORI, R. F.; BETTIOL, W. Oídios de cucurbitáceas. In: STADNIK, M. J.; RIVERA, M. C. **Oídios**. Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna, p.217-255, 2001.

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

TAGAMI, O.K GASPARIN, M.D.G. SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. CRUZ, M.E.da S. ITAKO, A.T. TOLENTINO JÚNIOR, J.B. MORAES, L.M. STANGARLIN, J.R. Fungitoxidade de *Bidens pilosa*, *Thymus vulgaris*, *Lippia alba* e *Rosmarinus officinalis* no desenvolvimento in vitro de fungos fitopatogênicos. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 285-294, abr./jun. 2009

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal.. In: **Metabólitos secundários e defesa vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, p. 343-375, 2009.

TRANI, E.P. et al. **Calagem e adubação do pepino**. Instituto Agronômico, Centro de Horticultura, Campinas SP, 2015.

UEDA, M. et al. Extrato etanólico obtido do composto exaurido de *Agaricus blazei* no crescimento, esporulação e germinação in vitro de *Corynespora cassiicola* e na indução da enzima peroxidase em plantas de pepino “japonês”. **Scientia Agraria Paranaensis**. Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Agronomia, v. 7, p.63-73, 2008.

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.

VASAS, A. et al. The Genus *Rumex*: Review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Jornal off Ethnopharmacology** ,175, p.198–228,2015.