



**Universidade Federal da Fronteira Sul  
Campus Erechim  
Curso de Agronomia  
Trabalho de Conclusão de Curso II**

**FRANCINE FALCÃO DE MACEDO**

**Extratos vegetais e ácido salicílico induzem resistência à podridão mole  
em pós-colheita de morango**

ERECHIM – RS

2017

FRANCINE FALCÃO DE MACEDO

**Extratos vegetais e ácido salicílico induzem resistência à podridão mole em pós-colheita de morango**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Orientadora: Profa. Dra. Paola Mendes Milanesi

ERECHIM – RS

2017

## **PROGRAD/DBIB - Divisão de Bibliotecas**

Macedo, Francine Falcão de  
Extratos vegetais e ácido salicílico induzem  
resistência à podridão mole em pós-colheita de morango/  
Francine Falcão de Macedo. -- 2017.  
34 f.:il.

Orientadora: Paola Mendes Milanesi.  
Trabalho de conclusão de curso (graduação) -  
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de  
Agronomia , Erechim, RS , 2017.

1. controle alternativo. 2. crescimento micelial. 3.  
enzimas. I. Milanesi, Paola Mendes, 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).



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS  
CAMPUS ERECHIM

### ATA DE DEFESA PÚBLICA DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

Aos trinta dias do mês de junho de 2017, às 14:30 horas, foi realizado a defesa pública do Trabalho de Conclusão de Curso II de **Francine Falcão de Macedo**, intitulado “**Indução de resistência à podridão mole, em pós-colheita de morango, por extratos vegetais e ácido salicílico**”.

A Banca Examinadora, constituída pela professora orientadora **Paola Mendes Milanesi**, pela professora **Denise Cargnelutti** e pela doutoranda **Ediane Roncaglio Baseggio**, emitiu o seguinte parecer:

Aprovada com nota: 9,4

Refazer o relatório

Reprovada

Obs.: Extratos vegetais e ácido salicílico induzem resistência à podridão mole em pós-colheita de morango.

Eu, Paola Mendes Milanesi orientadora da aluna, lavrei a presente Ata que segue por mim assinada e pelos demais membros da Banca Examinadora.

*Paola Milanesi*

Paola Mendes Milanesi  
Orientadora

*Denise Cargnelutti*

Denise Cargnelutti  
Examinadora

*Ediane Roncaglio Baseggio*

Ediane Roncaglio Baseggio  
Examinadora

*Francine Falcão de Macedo*

Francine Falcão de Macedo  
Discente

## SUMÁRIO

Resumo.....	6
Abstract.....	7
Introdução.....	8
Material e métodos.....	10
Resultados e Discussão.....	15
Referências Bibliográficas.....	24
Anexos.....	27

1 **Extratos vegetais e ácido salicílico induzem resistência à podridão mole em pós-**  
2 **colheita de morango**

3  
4 Francine Falcão de Macedo<sup>1</sup>, Denise Cargnelutti<sup>1</sup>, Sérgio Miguel Mazarro<sup>2</sup>, Paola  
5 Mendes Milanesi<sup>1</sup>  
6

7 <sup>1</sup>Universidade Federal da Fronteira Sul, ERS 135 – km 72, 200, C.P. 764, CEP 99700-  
8 970, Erechim/RS. <sup>2</sup>Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Estrada para Boa  
9 Esperança – km 04, CEP 85660-000, Dois Vizinhos/PR  
10 Autor para correspondência: francine.f.m@hotmail.com  
11

12 **RESUMO**

13 O morango é uma infrutescência amplamente aceita pelos consumidores. No  
14 entanto, os frutos são suscetíveis a perdas em pós-colheita que, aliada à agressividade de  
15 fungos do gênero *Rhizopus*, aumenta o número de aplicações de agrotóxicos,  
16 descontentando o atual mercado consumidor. Os extratos vegetais podem representar  
17 uma forma de controle alternativo, devido ao seu potencial elicitador, induzindo  
18 mecanismos de defesa nas plantas. Deste modo, objetivou-se investigar o efeito das  
19 diferentes concentrações dos extratos brutos aquosos de gengibre e orégano e do ácido  
20 salicílico, *in vitro* e *in vivo*, no do crescimento e inibição micelial de *Rhizopus*  
21 *stolonifer*. Ainda, respostas de resistência foram determinadas pela quantificação de  
22 açúcares totais e redutores, concentração de proteínas, verificação de incidência de  
23 doença, redução de massa e avaliação da atividade enzimática (fenilalanina amônia-  
24 liase, guaiacol peroxidase, superóxido dismutase, quitinase e  $\beta$ -1,3-glucanase). Os  
25 resultados do presente estudo mostram que os extratos de gengibre a 10 e 20% foram  
26 eficientes na inibição do crescimento micelial de *R. stolonifer*. O extrato de gengibre a  
27 20% apresentou menor perda de massa e maior concentração de açúcares totais. O ácido  
28 salicílico foi o tratamento em que houve maior expressão das enzimas quitinase, SOD e  
29 FAL. Estes resultados indicam o potencial dos extratos e do ácido salicílico na indução

30 de resistência, mas também demonstram que ainda são necessários mais estudos que  
31 elucidem seus efeitos sobre frutos em pós-colheita.

32 Palavras-chave adicionais: controle alternativo; crescimento micelial; enzimas.

33

#### 34 **ABSTRACT**

35 Strawberry is a widely accepted infructescence. However, the fruits are  
36 susceptible to post-harvest losses, together with the aggressiveness of fungi of the genus  
37 *Rhizopus* increasing the number of agrochemical applications, disappointing the current  
38 consumer market. Aqueous extracts may represent a form of alternative control, by  
39 acting as elicitor molecule, inducing defense mechanisms. Therefore, this study aimed  
40 to evaluate the effect of ginger and oregano aqueous extracts, in different  
41 concentrations, and salicylic acid *in vitro* and *in vivo*, through the mycelial growth and  
42 inhibition of *Rhizopus stolonifer*. In addition, induced resistance responses through  
43 quantification of total and reducing sugars, protein, disease incidence, weight reduction  
44 and evaluation of enzymatic activity (FAL, POD, SOD, chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase).  
45 The treatments 10 and 20% ginger aqueous extract were efficient in inhibiting the  
46 mycelial growth of *R. stolonifer*. The 20% ginger aqueous extract presented lower loss  
47 weight and higher total sugar concentration. Salicylic acid was the treatment which  
48 there was greater expression of the enzymes chitinase, SOD and FAL. These results  
49 indicate the contribution of the use of extracts and salicylic acid in the induction of  
50 resistance, but also demonstrate that further studies are needed to elucidate their effects  
51 on post-harvest fruits.

52 Additional keywords: alternative disease control; fungitoxicity; enzymes.

53

## INTRODUÇÃO

54

55

56           Devido a grande quantidade de propriedades nutracêuticas e ao aroma e sabor  
57 agradáveis, o morango é uma infrutescência amplamente aceita pelos consumidores. No  
58 entanto, os frutos são suscetíveis a perdas em pós-colheita, devido à elevada taxa de  
59 respiração e ao ataque de fitopatógenos, como os do gênero *Rhizopus* (3). A presença  
60 desse fungo é caracterizada pela mudança na cor da infrutescência, seguida de podridão  
61 mole e aquosa (2). Estes sintomas são a expressão de uma desintegração avançada do  
62 tecido que, em condições favoráveis, podem ocasionar perdas severas em pouco tempo  
63 (1, 2).

64           A agressividade do agente etiológico da podridão mole aliado à suscetibilidade  
65 da cultura gera aumento no número de aplicações de agrotóxicos. Em contrapartida, a  
66 perspectiva do mercado consumidor exige alimentos livres de resíduos, uma vez que a  
67 intensa utilização de agrotóxicos, além dos danos à saúde, pode causar problemas de  
68 contaminação ambiental, intoxicação de agricultores e morte de diversos micro-  
69 organismos (22).

70           A imunidade das plantas é regra e a suscetibilidade é exceção. As plantas  
71 possuem inúmeros e eficientes mecanismos de defesa, como barreiras físicas ou reações  
72 bioquímicas, sendo pré ou pós-formados (1). Quando a planta é exposta a um agente  
73 indutor seus mecanismos de defesa são ativados, podendo ocorrer o processo de  
74 Resistência Sistêmica Adquirida (RSA) ou Resistência Sistêmica Induzida (RSI).  
75 Alteração na atividade de enzimas antioxidantes, como a superóxido dismutase (SOD),  
76 e aumento na atividade de enzimas relacionadas à defesa de plantas, como  $\beta$ -1,3-



77 glucanase, quitinase, fenilalanina amônia-liase (FAL), podem estar relacionadas à  
78 indução de resistência (25, 26).

79 Os extratos vegetais estão inseridos neste contexto como produtos alternativos  
80 utilizados em pós-colheita que podem atuar na elicitação, induzindo resistência em  
81 plantas. Diversos trabalhos com extratos tem demonstrado a eficiência destes no  
82 controle de fitopatógenos (6, 7, 11), seja por indução de resistência ou pela  
83 fungitoxicidade. A aplicação do ácido salicílico (AS) induz a expressão de genes de  
84 proteínas relacionadas a patogênese e também confere resistência contra patógenos (4).

85 Dentre as vantagens do uso de extratos vegetais está a disponibilidade de plantas  
86 bioativas aos agricultores, a diminuição de impactos ambientais e saúde humana, a  
87 elevada ação antimicrobiana, a não resistência do patógeno e a baixa fitotoxicidade. Como  
88 desvantagens pode-se destacar a rápida degradação e a ainda incipiente quantidade de  
89 informações quanto ao correto uso, efeitos secundários e a variabilidade de efeitos (8,  
90 23).

91 Em vista da necessidade de minimização dos impactos ambientais oriundos da  
92 agricultura, o cumprimento do papel social e a viabilidade econômica da atividade,  
93 objetivou-se investigar o efeito dos extratos vegetais de gengibre e orégano na indução  
94 de resistência à podridão mole (*Rhizopus stolonifer*) quando aplicados na pós-colheita  
95 em morangos. Para isso avaliou-se os efeitos dos extratos *in vitro* e *in vivo*, através do  
96 crescimento e inibição micelial, da quantificação de açúcares totais e redutores, da  
97 concentração de proteínas, da redução da massa, da incidência da doença e da atividade  
98 das enzimas  $\beta$ -1,3-glucanase, quitinase, fenilalanina-amônia-liase (FAL), guaiacol  
99 peroxidase (POD) e superóxido dismutase (SOD).

100

## MATERIAL E MÉTODOS

101

102

103 O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Entomologia e Fitopatologia e no  
104 Laboratório de Microscopia da Universidade Federal as Fronteira Sul, Campus Erechim  
105 e no Laboratório de Fitopatologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
106 Campus Dois Vizinhos.

107

### 108 **Obtenção e manutenção do fitopatógeno**

109 O isolamento do *Rhizopus stolonifer* foi realizado a partir de frutos de morango  
110 contendo sintomas de podridão mole. O patógeno foi armazenado em placas de Petri  
111 contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA), em câmara incubadora tipo BOD a  $25 \pm 2$   
112 °C e fotoperíodo de 12 h.

113

### 114 **Extrato bruto aquoso (EBA)**

115 O material vegetal foi coletado no município de Aratiba – RS, nas coordenadas  
116 geográficas 27° 23' 39" Sul, 52° 17' 22" Oeste conforme o sistema de referências WGS-  
117 84, correspondendo a folhas e caules de orégano (*Origanum vulgare*) e rizoma de  
118 gengibre (*Zingiber officinale*). Para assepsia do material vegetal foi utilizado álcool 70  
119 %, hipoclorito 1 % e tríplice lavagem com água destilada e esterilizada. O gengibre foi  
120 triturado em liquidificador industrial, seguido de secagem em estufa de circulação de ar  
121 forçado por 72 h a  $40 \pm 2$  °C. Após secagem, realizou-se a trituração dos materiais em  
122 moinho de facas tipo Willye com peneira 30 mesh.

123 O EBA foi obtido a partir da mistura de 100 g do material moído em 1 L de água  
124 esterilizada. Em liquidificador industrial realizou-se a homogeneização, pela agitação

125 durante 5 minutos e em seguida centrifugação a  $9500 \times g$ , durante 10 min a temperatura  
126 ambiente, para separação do sobrenadante. O sobrenadante do EBA foi diluído nas  
127 concentrações 5 %, 10 %, 15 % e 20% para a constituição dos tratamentos. Como  
128 tratamento testemunha foi utilizado água estéril e o ácido salicílico (AS), na  
129 concentração de 2,0 mM, como tratamento adicional.

130

### 131 **Análise *in vitro***

132 Para avaliar o efeito fungitóxico *in vitro* os EBA's e suas respectivas  
133 concentrações, foram diluídos em meio BDA. Após solidificação do meio, discos de 5  
134 mm de diâmetro, contendo micélio e esporos do patógeno, foram transferidos para o  
135 centro das placas que, em seguida, foram incubadas a  $25 \pm 2$  °C e fotoperíodo de 12 h. O  
136 diâmetro das colônias do patógeno foi mensurado com auxílio de uma régua  
137 milimetrada (mm), considerando-se a média de duas medidas diametralmente opostas,  
138 até seis dias após o início da incubação. A taxa de inibição do crescimento micelial  
139 (ICM) foi calculada de acordo com a equação descrita por Hillen et al. (14):

$$140 \text{ ICM}(\%) = \frac{(\text{crescimento na testemunha} - \text{crescimento no tratamentoY})}{\text{crescimento na testemunha}} \cdot 100$$

141

### 142 **Análise *in vivo***

143 Para as avaliações *in vivo*, os frutos foram selecionados de acordo com a  
144 ausência de injúrias visuais e infecções, uniformidade de tamanho, firmeza e cor. A  
145 assepsia foi feita com submersão destes durante 1 minuto em hipoclorito de sódio (1%),  
146 seguida de três lavagens com água esterilizada. Após secagem natural, os frutos foram  
147 imersos nos tratamentos durante 30 min, acondicionados em bandejas plásticas cobertas  
148 por plástico filme e armazenados em BOD a  $25$  °C  $\pm$   $2$  °C e fotoperíodo de 12 h. A

149 inoculação de *Rhizopus stolonifer* ( $2,87 \times 10^6$  esporos  $\text{mL}^{-1}$ ) foi efetuada após 24 h  
150 como o auxílio de um borrifador. As avaliações do item 1. foram realizadas 0, 24, 48 e  
151 72 h, a partir da exposição aos tratamentos e as avaliações do item 2. 24, 48 e 72 h após  
152 inoculação do patógeno.

153

#### 154 **1. Avaliação de redução da massa e incidência da doença**

155 Para quantificar a massa, realizaram-se pesagens em balança analítica (0,0001 g)  
156 e, para determinar a redução, fez-se a subtração entre os tempos de pesagem.  
157 Considerou-se o percentual (%) de frutos doentes em uma população de 10 frutos para  
158 cada tratamento, como incidência da doença.

159

#### 160 **Análises bioquímicas**

161 A atividade da fenilalanina-amônia-liase (FAL), E.C. 4.3.1.5, foi avaliada com  
162 base na diferença de absorbância resultante da conversão da fenilalanina em ácido trans-  
163 cinâmico, conforme metodologia adaptada de Rodrigues et al. (20). Utilizou-se 0,5 g de  
164 material vegetal para maceração em 3,0 mL do tampão TRIS-HCl pH 8,0 (22,2 g de  
165 Tris; 0,37 g de EDTA; 85,5 g de sacarose e 10 g de PVP). A mistura foi centrifugada a  
166  $6000 \times g$  por 10 min a 4 °C. Do sobrenadante utilizou-se 200  $\mu\text{L}$  em 5,0 mL do tampão,  
167 para obtenção do extrato enzimático. Realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 290  
168 nm, da reação de 1,5 mL de extrato enzimático com 1,0 mL do tampão e 0,5 mL de  
169 fenilalanina ( $49,6 \text{ mg mL}^{-1}$ ) incubada a 40 °C por 1 h, seguida de banho de gelo.

170 Para quantificação da superóxido dismutase (SOD), E.C. 1.15.1.1, utilizou-se 0,5  
171 g de material vegetal em 3,0 mL de tampão fosfato de sódio (pH 7,8; 0,05 M), contendo  
172 1 mM de EDTA e 2% de PVP. O material foi centrifugado a  $13.000 \times g$  por 20 min a 4

173 °C e o sobrenadante foi utilizado na mistura de reação com tampão fosfato de potássio  
174 50 mM (pH 7,8), metionina 13 mM, riboflavina 2 µM, NBT 75 µM e EDTA 0,1 mM. A  
175 produção fotoquímica da formazana azul a partir do NBT foi monitorada a 560 nm,  
176 conforme descrito por Giannopolitis & Ries (13) com adaptação do tempo de exposição  
177 à luz para 20 minutos.

178 Para avaliar a atividade antioxidante de remoção do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, optou-se por  
179 determinar a atividade da enzima Guaiacol peroxidase (POD), conforme descrito por  
180 Zeraik et al. (29) mesurando-se a oxidação de guaiacol a 470 nm. Para a POD a mistura  
181 de reação constituiu-se de 1,0 mL de tampão fosfato de sódio 0,1 M (pH 6,5), 1,0 mL de  
182 guaiacol (15 mM), 1,0 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (3 mM) e 50 µL de sobrenadante.

183 Para dosagem das atividades das enzimas quitinase (EC 3.2.1.14) e β-1,3-  
184 glucanase (EC 3.2.1.6) seguiram-se os procedimentos descritos por Wirth & Wolf (28),  
185 com adequações. As amostras foram maceradas em 2,0 mL de tampão acetato 100 mM  
186 (pH 5,0), com posterior centrifugação e coleta do sobrenadante.

187 A atividade da quitinase foi avaliada através da liberação de oligômeros solúveis  
188 de “*chitin-azure*”, a partir de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante  
189 azul 5R-RBB. A mistura de reação contendo 100 µL de extrato, 500 µL de tampão  
190 acetato de sódio (50 mM, pH 5,0) e 200 µL de “*CM-chitin-RBB*” (2 mg mL<sup>-1</sup>) foi  
191 incubada a 38 °C por 2 h e interrompida com 200 µL de HCl (2 N) e banho de gelo por  
192 10 min, a leitura em espectrofotômetro foi realizada a 550 nm.

193 Para determinação espectrofotométrica da β-1,3-glucanase a 600 nm, foi  
194 utilizado como substrato 200 µL de curdlan-remazol azul brilhante (4 mg mL<sup>-1</sup>) na  
195 mistura de 200 µL de extrato e 400 µL de tampão acetato de sódio (50 mM, pH 5,0) em

196 seguida incubou-se a 40 °C por 2 h, com reação interrompida por 200 µL de HCl 2 N e  
197 banho de gelo por 10 min.

198 Para a quantificação dos açúcares totais, foi adicionado 480 µL de tampão  
199 fosfato, 0,5 mL de fenol 5 % e 2,5 mL de ácido sulfúrico a 20 µL do extrato. A mistura  
200 foi mantida em temperatura ambiente até esfriar, e registrada leitura espectrofotométrica  
201 a 490 nm (10). A curva padrão utilizada foi confeccionada a partir de uma solução de  
202 glicose utilizando fenol 5 %.

203 Os níveis de açúcares redutores foram registrados a 540 nm, adicionando-se 1,0  
204 mL do reagente Dinitrosalicilato (DNS) a 0,5 mL do extrato enzimático, que após  
205 ebulição por 5 min e resfriamento em temperatura ambiente, teve seu volume  
206 completado para 10,0 mL com água destilada (17). Como curva padrão utilizou-se uma  
207 concentração da solução de glicose e 1,0 mL de DNS.

208 Em todas as preparações enzimáticas a concentração de proteínas foi mensurada  
209 pelo método Coomassie Blue, conforme descrito por Bradford (5), usando albumina  
210 sérica bovina como padrão.

211

## 212 **Análise estatística**

213 O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Para as avaliações *in*  
214 *vitro* foram utilizadas seis repetições, onde cada placa constituiu uma unidade  
215 experimental. Nas avaliações *in vivo*, foram utilizadas três repetições de vinte frutos  
216 para cada um dos dez tratamentos, dos quais dez foram utilizados para as análises  
217 bioquímicas, e os outros dez para análise de massa e incidência da doença. Os dados  
218 foram submetidos à análise de variância, e quando significativos comparados pelo teste  
219 de Tukey, com 5% de probabilidade de erro.

220

221

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

222

223 Na análise de crescimento micelial o extrato de gengibre apresentou médias  
224 significativamente inferiores, o EBA a 20% (38,9 mm) e a 10% (44,2 mm) foram os  
225 tratamentos em que observou-se o menor crescimento quando comparadas com o AS  
226 (77,6 mm), tratamento com maior média (Figura 1), aliado a capacidade de inibição do  
227 crescimento micelial que, para os mesmo tratamentos, foi superior (Figura 2). Soares  
228 (24) identificou atividade antifúngica do uso de óleo essencial de gengibre para o  
229 controle de *Aspergillus carbonarius*. Ainda, com o uso de gengibre, Rodrigues et al.  
230 (21) verificaram inibição do crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* e aumento  
231 na atividade da enzima peroxidase, além de redução da incidência de mofo branco sobre  
232 a alface e aumento de produção de fitoalexinas em sorgo e soja correspondente ao  
233 aumento da dose do extrato.

234 Foi possível observar que o ICM para o primeiro tempo avaliado (24 h) não  
235 apresentou diferença estatística entre os tratamentos, reduzindo nos tempos seguintes,  
236 especialmente para as placas contendo EBA de orégano e testemunha. Esse resultado  
237 contraria o de análise de inibição do desenvolvimento de alguns fungos utilizando óleos  
238 essenciais de plantas condimentares realizada por Pereira et al. (19), os quais  
239 verificaram que o óleo essencial de orégano inibiu o desenvolvimento dos fungos *A.*  
240 *ochraceus*, *A. flavus* e *Fusarium* spp. em todas as concentrações. Com isso, pode-se  
241 inferir que o extrato aquoso de orégano não foi eficiente no controle do crescimento  
242 micelial *in vitro* de *Rhizopus stolonifer*.

243 A menor redução de massa foi obtida nos frutos tratados com AS (Tabela 2), que  
244 pode ser explicada pela capacidade de interferência do AS na síntese de etileno,  
245 Gerailoo & Ghasemnezhad (12) verificaram atraso na senescência de flores de vaso  
246 quando utilizado  $150 \text{ mg L}^{-1}$  de AS. A redução de massa foi acentuando-se com o  
247 decorrer do tempo, mantendo-se constantes as massas apenas no tratamento com 5% de  
248 gengibre e AS. Tal redução está correlacionada (0,32) com a incidência da doença,  
249 cujos resultados não foram significativos entre os tratamentos, apenas alterando de  
250 16,6% para 61,9% a incidência entre 24 e 72 h, respectivamente, após o tratamento com  
251 os diferentes indutores (Figura 3).

252 Os açúcares redutores nas infrutescências diminuíram com o tempo e  
253 principalmente no tratamento com EBA 10% de orégano, verificou-se redução brusca às  
254 48 h após a inoculação (Tabela 3). Os níveis de açúcares redutores aumentaram junto  
255 com o aumento da atividade da SOD, com correlação de 0,21. Percebeu-se ainda maior  
256 concentração de açúcares totais no tratamento com 20% de EBA de gengibre, 72 h após  
257 a inoculação do patógeno (Tabela 3). Houve correlação negativa (-0,21) entre a  
258 incidência de podridão mole e os açúcares totais e, portanto, quanto maior a incidência,  
259 menor a quantidade de açúcares totais.

260 O tratamento com ácido salicílico apresentou a menor concentração de proteínas  
261 ( $0,46021 \text{ mg g}^{-1}$  tecido), seguido pelo tratamento com EBA de gengibre a 20% ( $0,$   
262  $69679 \text{ mg g}^{-1}$  tecido) enquanto o tratamento testemunha foi o que apresentou a maior  
263 concentração ( $1,33406 \text{ mg g}^{-1}$  tecido) (Tabela3). Houve relação entre o aumento da  
264 atividade da FAL e o aumento na concentração de proteína, com correlação de 0,24 e  
265 correlação negativa entre FAL e açúcares totais (-0,28) que podem indicar possíveis



266 alterações no metabolismo primário ou nas rotas de substratos para o metabolismo  
267 secundário (9).

268 A atividade da SOD não diferiu estatisticamente no decorrer do tempo,  
269 apresentando maior atividade no tratamento com AS e menor no tratamento com 5% de  
270 EBA de orégano. Comportamento semelhante pode-se observar na enzima quitinase,  
271 porém, essa enzima aumentou sua atividade no tempo. Diferente desta, a atividade da  
272 FAL reduziu com o tempo de exposição ao patógeno e isso foi inferior no tratamento  
273 com AS (Tabela 1). O comportamento dessas enzimas está descrito na Figura 4, sendo  
274 as correlações existentes entre SOD – FAL, SOD – Quitinase e Quitinase – FAL de -  
275 0,36; 0,38; e -0,57, respectivamente. Percebe-se que quando há aumento na atividade da  
276 FAL a atividade da Quitinase e da SOD diminui, enquanto que essas duas últimas  
277 seguem o mesmo padrão. Logo, de modo geral, o aumento de uma está acompanhado  
278 do aumento da outra (Figura 4).

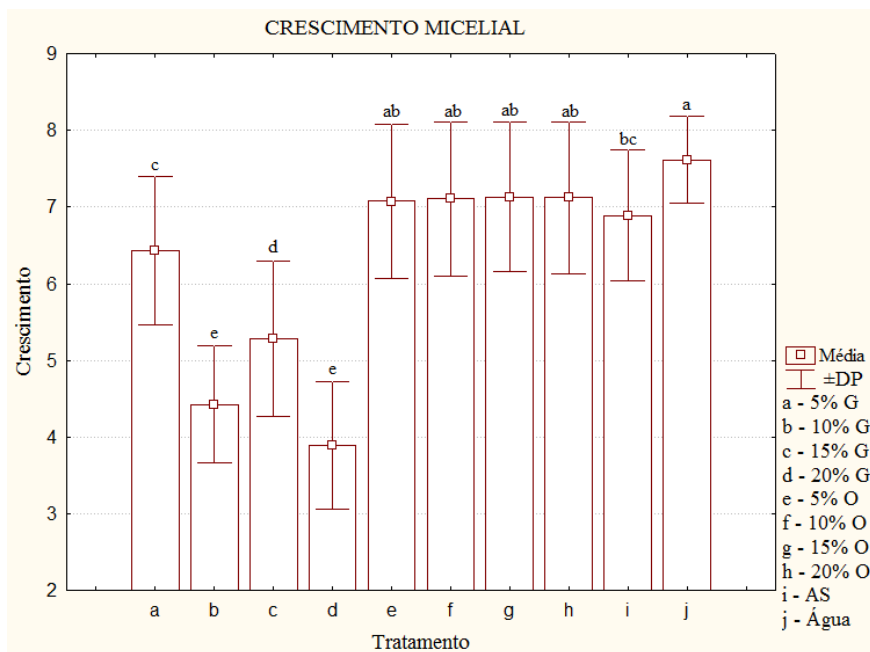
279 Há produção de peróxido de hidrogênio durante o estresse o que pode ser  
280 resultado da atividade da SOD. Esse, junto com AS e óxido nítrico, é capaz de ativar  
281 defesas na planta, incluindo respostas de hipersensibilidade e atividade de peroxidases.  
282 Assim, a planta produz mais espécies reativas de oxigênio (EROs) e, ao mesmo tempo,  
283 diminui a sua própria capacidade de eliminação das EROs (18). Isso pode explicar a  
284 redução na atividade da SOD nos morangos tratados com os extratos brutos aquosos  
285 como parte da resposta de hipersensibilidade, haja vista que os morangos tratados com  
286 EBAs diferiram estatisticamente daqueles que receberam AS, o que poderia evidenciar  
287 que os EBAs atuam como indutores de resistência por ativar respostas de  
288 hipersensibilidade (Tabela 1).

289 A fenilalanina amônia-liase está ligada a formação de lignina, pela desaminação  
290 direta de L-fenilalanina para formar ácido cinâmico e amônia (15). Porém, o aumento em  
291 sua atividade, quando analisado em alface minimamente processada, foi correlacionado  
292 com a redução na vida de prateleira e qualidade visual da hortaliça (16). Isso sugere que  
293 as plantas tratadas com os extratos (exceto os tratamentos com EBA de gengibre a 5% e  
294 de orégano a 20%) tendem a apresentar melhor aparência das infrutescências, uma vez  
295 que a atividade da FAL foi superior apenas 24 h após inoculação do fungo, reduzindo  
296 com o passar do tempo (Tabela 1). A elevada atividade apenas no início estaria atrelada  
297 também a resposta de indução de resistência.

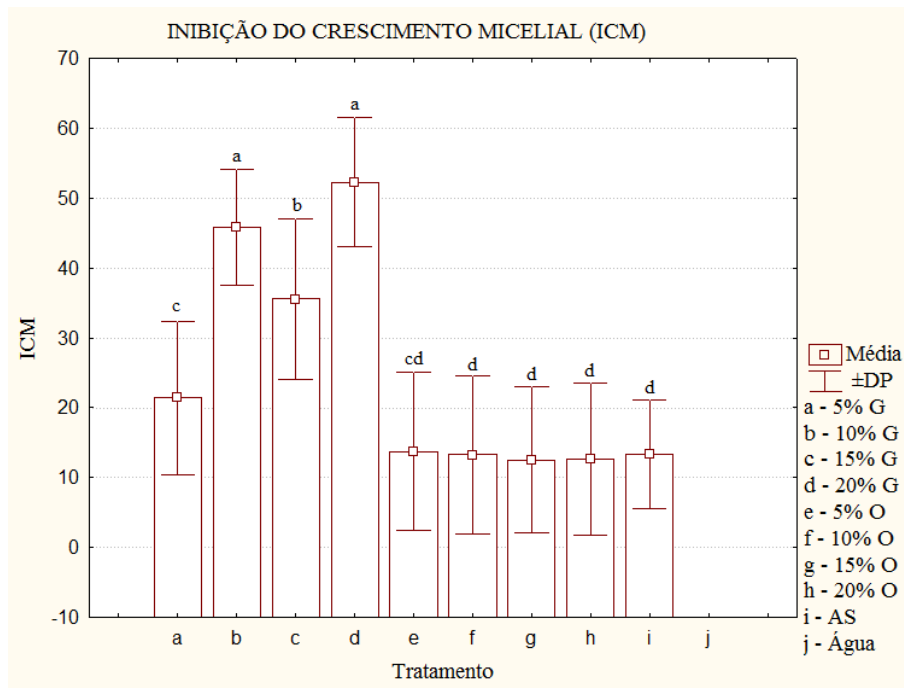
298 A atividade da quitinase aumentou com o decorrer do tempo, ao passo que a  
299 incidência da podridão mole também. As paredes dos fungos são formadas por ligações  
300  $\beta$ -1,4 N-acetilglicosaminas que constituem a quitina. Desse modo, as quitinases  
301 catalisam a hidrólise destas ligações (27). Nos tratamentos com EBA de gengibre a  
302 20%, AS e testemunha verificou-se maior atividade da quitinase às 24 h, modificando o  
303 comportamento com o passar do tempo (Tabela 1). Portanto, pode ser que o aumento da  
304 atividade da quitinase não esteja diretamente ligado à resposta de indução de resistência  
305 e sim a maior disponibilidade de fungos para sua atuação.

306 O efeito sobre a atividade das enzimas guaiacol peroxidase e  $\beta$ -1,3-glucanase  
307 não foi expressivo, representando a não ativação destas enzimas. De maneira peculiar, o  
308 tratamento em que a atividade das enzimas FAL, SOD e Quitinase mais sofreram  
309 alterações foi o AS. Isso sugere que mais trabalhos podem ser realizados com o intuito  
310 de descrever o comportamento de diferentes enzimas produzidas pelas plantas em  
311 respostas de resistência induzida, quando estas forem expostas ao tratamento em pós-  
312 colheita com ácido salicílico.

313 Os resultados indicaram que para as variáveis avaliadas *in vitro* o tratamento  
 314 mais eficiente foi com o EBA de gengibre a 10 e 20% e que o EBA de orégano não foi  
 315 eficiente. Para respostas das análises *in vivo* destacou-se o EBA de gengibre na  
 316 concentração de 20%, por apresentar menor perda significativa de massa e maior  
 317 concentração de açúcares totais 72 h após a inoculação. O comportamento das enzimas  
 318 Quitinase, SOD e FAL, quando correlacionadas, em morangos tratados com AS em pós-  
 319 colheita foi expressivo, podendo ser alvo de novas pesquisas. Além disso, a redução da  
 320 SOD nos tratamentos com extratos aquosos pode estar relacionada com a resposta de  
 321 hipersensibilidade, enquanto o aumento na quitinase pode ter ocorrido em razão de  
 322 maior incidência do patógeno. Ademais, a redução da FAL após 24 h garantiria uma boa  
 323 aparência para as infrutescências.

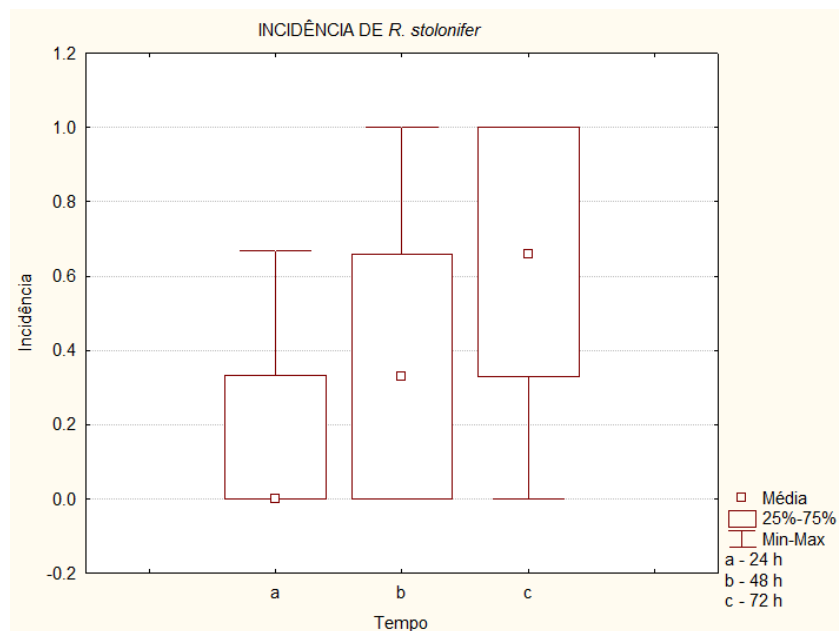


324 **Figura 1.** Inibição do crescimento micelial de *Rhizopus stolonifer* após exposição aos  
 325 extratos brutos aquosos de gengibre (G) e orégano (O), nas doses 5, 10, 15 e 20%, e ao  
 326 ácido salicílico (AS). Os valores correspondem a média de três repetições  $\pm$  o desvio  
 327 padrão. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de  
 328 Tukey ( $p \leq 0,05$ ). C.V. (%): 11,85.  
 329  
 330



331  
 332 **Figura 2.** Inibição do crescimento micelial (ICM) de *Rhizopus stolonifer* após  
 333 exposição aos extratos brutos aquosos de gengibre (G) e orégano (O), nas doses 5, 10,  
 334 15 e 20%, e ao ácido salicílico (AS). Os valores correspondem à média de três  
 335 repetições ± o desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra não diferem  
 336 estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ). C.V. (%): 44,32.

337  
 338



339  
 340 **Figura 3.** Incidência de podridão mole (*Rhizopus stolonifer*) 25, 48 e 72 h após  
 341 inoculação do fungo. Os valores correspondem à média de três repetições ± o desvio  
 342 padrão. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de  
 343 Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

344 **Tabela 1.** Atividade das enzimas Fenilalanina Amônia-Liase (FAL), Quitinase e  
 345 Superóxido Dismutase (SOD) em morangos tratados com extratos aquosos de gengibre  
 346 (G) e orégano (O), nas doses 5, 10, 15 e 20%, e ácido salicílico (AS), em pós-colheita,  
 347 24, 48 e 72 h após a inoculação de *Rhizopus stolonifer*.

Tratamentos	Tempos de coleta		
	24 h	48 h	72 h
FAL (Uabs min <sup>-1</sup> mg proteína <sup>-1</sup> )			
5% G	0,5220±0,01 Ba*	0,4989±0,03aA	0,3513±0,04 aB
10% G	0,4065±0,02 cdA	0,2573±0,03 cdB	0,3363±0,02 aAB
15% G	0,3637±0,03 cdA	0,3706±0,02 bcA	0,3155±0,09 aA
20% G	0,4069±0,04 bcdA	0,3215±0,05 bcB	0,3020±0,04 aB
5% O	0,3727±0,01 cdA	0,4233±0,09 abA	0,3623±0,05 aA
10% O	0,4603±0,02 bcA	0,2891±0,05 cB	0,3364±0,03 aB
15% O	0,3350±0,06 deA	0,2611±0,05 cdA	0,2908±0,01 aA
20% O	0,6737±0,09 aA	0,4088±0,02 abB	0,3733±0,01 aB
Água	0,4386±0,07 bcdA	0,3116±0,06 bcB	0,3793±0,01 aAB
AS	0,2245±0,03 eA	0,1520±0,01 dA	0,1626±0,01 bA
C.V. (%): 12,03			
Quitinase (Uabs min <sup>-1</sup> mg proteína <sup>-1</sup> )			
5% G	0,5161±0,09 cB	1,3925±0,18 bcA	1,6252±0,21 bcA
10% G	0,3685±0,22 cC	1,1333±0,3 bcB	2,4472±0,64 bA
15% G	0,8900±0,14 bcB	1,3205±0,92 bcAB	1,9370±0,78 bcA
20% G	1,5892±0,11 bA	1,6500±0,13 bcA	2,2213±0,27 bcA
5% O	0,3705±0,09 cB	0,9865±0,05 bcB	1,7695±0,17 bcA
10% O	0,4002±0,12 cB	0,8261±0,20 cdAB	1,4730±0,03 cA
15% O	0,9194±0,09 bcB	1,8826±0,15 bA	2,0945±0,45 bcA
20% O	0,7767±0,44 bcB	1,7067±0,14 bcA	2,2691±0,44 bcA
Água	0,0403±0,01 cA	0,0331±0,01 dA	0,0467±0,01 dA
AS	5,7806±0,02 aA	4,6783±0,40 aB	4,7589±0,74 aB
C.V. (%): 22,05			
SOD (Uabs min <sup>-1</sup> mg proteína <sup>-1</sup> )			
5% G	0,2720±0,04 bA	0,3400±0,13 bcdeA	0,1780±0,01 cA
10% G	0,6093±0,14 aA	0,5130±0,16 abcA	0,4470±0,01 bcA
15% G	0,2910±0,06 bB	0,4810±0,27 bcdB	0,8180±0,37 aA
20% G	0,4549±0,04 abA	0,6180±0,16 abA	0,5000±0,01 bA
5% O	0,2900±0,01 bA	0,0540±0,01 eB	0,1680±0,01 cAB
10% O	0,5120±0,01 abA	0,3078±0,05 cdeA	0,4099±0,02 bcA
15% O	0,4591±0,01 abA	0,2040±0,07 cdeB	0,3784±0,24 bcAB
20% O	0,2640±0,02 bB	0,2580±0,09 cdeB	0,6087±0,05 abA
Água	0,2204±0,01 bA	0,1891±0,04 deA	0,1867±0,04 Ca
AS	0,4060±0,10 abB	0,8200±0,00 aA	0,6138±0,03 abAB
C.V. (%): 29,16			

\* Os valores são a média de três repetições  $\pm$  desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

348  
349  
350  
351

**Tabela 2.** Redução da massa de morangos tratados com extratos vegetais de gengibre (G) e orégano (O), nas doses 5, 10, 15 e 20%, e ácido salicílico (AS), em pós-colheita, 24, 48 e 72 h após a exposição aos extratos.

Tratamentos	Tempos de coleta		
	24 h	48 h	72 h
	Redução de massa (g)		
5% G	0.2366 $\pm$ 0.16 aC*	2.1257 $\pm$ 0.53 abcB	7.7760 $\pm$ 0.49 aA
10% G	0.4316 $\pm$ 0.18 aB	2.4146 $\pm$ 0.23 abcA	1.5123 $\pm$ 0.52 cdeA
15% G	0.3159 $\pm$ 0.05 aB	2.7738 $\pm$ 0.50 abA	2.5152 $\pm$ 0,27 bcA
20% G	0.2773 $\pm$ 0.09 aB	3.3613 $\pm$ 1.53 aA	2.4556 $\pm$ 0.33 bcA
5% O	0.2304 $\pm$ 0.15 aB	1.9264 $\pm$ 0.41 bcA	1.0136 $\pm$ 0.27 deAB
10% O	0.3061 $\pm$ 0.06 aB	2.0893 $\pm$ 0.35 abcA	2.3461 $\pm$ 0.22 bcdA
15% O	0.4914 $\pm$ 0.04 aB	1.1996 $\pm$ 0.30 cB	2.9329 $\pm$ 1.07 bA
20% O	0.8438 $\pm$ 0.16 aA	1.7520 $\pm$ 0.89 bcA	1.0657 $\pm$ 0.14 deA
Água	0.3376 $\pm$ 0.20 aC	2.9220 $\pm$ 0.33 abA	1.5945 $\pm$ 1.24 bcdeB
AS	0.5332 $\pm$ 0.28 aA	1.1935 $\pm$ 0.38 cA	0.5684 $\pm$ 0.03 eA

CV (%): 31,00

\* Os valores são a média de três repetições  $\pm$  desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

352  
353  
354  
355

**Tabela 3.** Açúcares totais, açúcares redutores e proteína de morangos tratados com extratos vegetais de gengibre (G) e orégano (O), nas doses 5, 10, 15 e 20%, e ácido salicílico (AS), em pós-colheita, 24, 48 e 72 h após a inoculação de *Rhizopus stolonifer*.

Tratamentos	Tempos de coleta		
	24 h	48 h	72 h
	Açúcares totais (mg/g.tecido)		
5% G	31.1214 $\pm$ 0.60 abA*	31.1304 $\pm$ 4.25 bcA	28.8971 $\pm$ 0.99 abcA
10% G	21.2617 $\pm$ 2.63 cA	20.9521 $\pm$ 5.08 deA	17.9726 $\pm$ 5.57 dA
15% G	18.1206 $\pm$ 2.58 cB	34.8366 $\pm$ 4.51 abA	32.3237 $\pm$ 1.40 abcA
20% G	30.9813 $\pm$ 1.16 abA	35.3923 $\pm$ 5.60 abA	34.0106 $\pm$ 1.60 aA
5% O	33.8100 $\pm$ 3.81 abA	18.8498 $\pm$ 4.12 eB	26.8012 $\pm$ 0.96 abcdA
10% O	21.0285 $\pm$ 4.17 cB	29.4654 $\pm$ 3.99 bcdA	24.1375 $\pm$ 1.88 bcdAB
15% O	34.2393 $\pm$ 3.79 abA	16.1547 $\pm$ 3.41 eB	34.6533 $\pm$ 6.35 aA
20% O	25.1125 $\pm$ 1.94 bcA	20.4169 $\pm$ 4.36 deA	23.1757 $\pm$ 1.08 cdA
Água	27.0395 $\pm$ 3.31 bcAB	21.8933 $\pm$ 1.59 cdeB	32.9244 $\pm$ 4.56 abA
AS	37.9215 $\pm$ 4.29 aAB	42.0727 $\pm$ 4.54 aA	34.2609 $\pm$ 1.46 aB

CV (%): 12,74

	Açúcares redutores (mg/g.tecido)		
5% G	0.00024 $\pm$ 0.000014 abA	0.0002 $\pm$ 0.000005 bcdB	0.0002 $\pm$ 0.000018 bAB
10% G	0.00027 $\pm$ 0.000006 aA	0.00017 $\pm$ 0.000006 cdC	0.00021 $\pm$ 0.000004 bB

15% G	0.00016±0.000008 deB	0.00021±0.000024 bcA	0.00021±0.000010 bA
20% G	0.00022±0.000005 bcA	0.00016±0.000009 dB	0.00014±0.000032 cB
5% O	0.00022±0.000021 bcA	0.00022±0.000021 abA	0.00013±0.000004 cB
10% O	0.00014±0.000005 eB	0.0002±0.000006 bcdA	0.00015±0.000018 cB
15% O	0.00019±0.000011 cdA	0.00016±0.000004 dAB	0.00015±0.000020 cB
20% O	0.00019±0.000012 cdA	0.00016±0.000009 dA	0.00016±0.000036 cA
Água	0.00024±0.000022 abA	0.0002±0.000011 bcdB	0.0002±0.000001 bcB
AS	0.00024±0.000022 abB	0.00026±0.000021 aB	0.00034±0.000017 aA

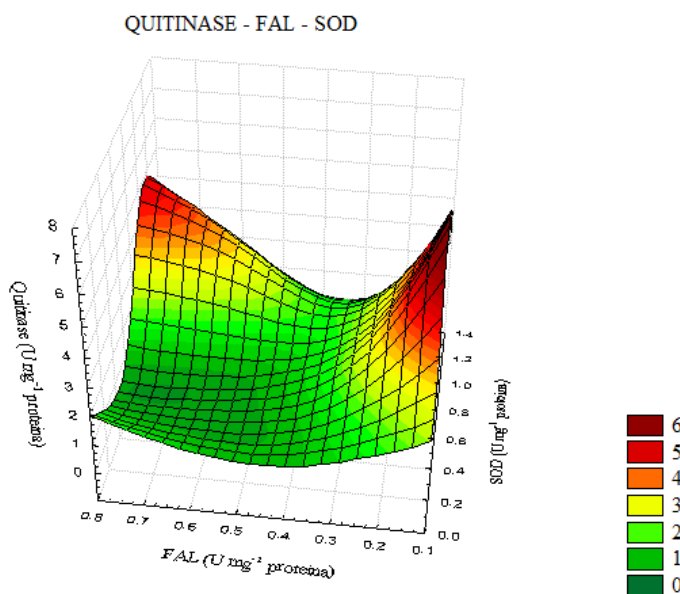
CV (%): 8,09

Proteína (mg/g.tecido)			
5% G	0.9097±0.03 bcA	0.6835±0.06 bcdA	0.8193±0,12 bcdA
10% G	1.0486±0.11 bA	1.0035±0.18 bA	0.5137±0.12 deB
15% G	0.8840±0.13 bcdAB	0.8121±0.36 bcB	1.1019±0.16 abA
20% G	0.6666±0.15 cdB	0.5033±0.03 cdB	0.9205±0.30 abcA
5% O	0.8862±0.11 bcdA	0.9077±0.05 bA	0.6961±0.07 cdeA
10% O	0.7187±0.09 bcdB	0.9917±0.09 bA	0.9891±0.04 abcA
15% O	0.8045±0.07 bcdAB	0.7010±0.04 bcdB	1.0011±0.09 abcA
20% O	0.8184±0.06 bcdA	0.8262±0.07 bcA	0.9784±0.05 abcA
Água	1.4201±0.04 aA	1.3387±0.08 aA	1.2433±0.10 aA
AS	0.5614±0.08 dA	0.4388±0.07 dA	0.3804±0.07 eA

CV (%): 14,63

\* Os valores são a média de três repetições ± desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

356



357

358 **Figura 4.** Comportamento das enzimas quitinase, superóxido dismutase (SOD) e  
 359 fenilalanina-amônia-liase (FAL), em morangos expostos aos extratos brutos aquosos de  
 360 gengibre (G) e orégano (O), nas doses 5, 10, 15 e 20%, e ao ácido salicílico (AS), para o  
 361 controle de podridão mole (*Rhizopus stolonifer*) em pós-colheita.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

362

363

- 364 1. AGRIOS, G.N. **Plant Pathology**. 5.ed. San Diego: Elsevier Academic Press,  
365 2005, 948p.  
366
- 367 2. AMORIM, L.; PASCHOLATI, S. Ciclo de relações patógeno – hospedeiro. In:  
368 AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; FILHO, A.B. **Manual de Fitopatologia**. 4.ed. São  
369 Paulo: Editora Agronômica Ceres Ltda, 2011. p. 59-97.  
370  
371
- 372 3. ANTUNES, L. E. C.; CARVALHO, G. L.; SANTOS, A. M. A cultura do  
373 morango. 2.ed. Brasília: **Embrapa Informação Tecnológica**, 2011. Disponível em:  
374 <[https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/925621/a-cultura-do-](https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/925621/a-cultura-do-morango)  
375 [morango](https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/925621/a-cultura-do-morango)>. Acesso em: 27 jun. 2017.  
376
- 377 4. ASGHARI, M.; AGHDAM, M.S. Impact of salicylic acid on post-harvest  
378 physiology of horticultural crops. **Trends in Food Science & Technology**, [S.l.], v. 21,  
379 p. 502 – 509, 2010.  
380
- 381 5. BRADFORD, M.M.; A rapid and sensitive method for the quantification of  
382 microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.  
383 **Analytical Biochemistry**, Orlando, v.72, p.248-254, 1976.  
384
- 385 6. BRITO, N.M.; NASCIMENTO, L.C. Potencial fungitóxico de extratos vegetais  
386 sobre *Curvularia eragrostidis* (P. Henn.) Meyer *in vitro*. **Revista brasileira de plantas**  
387 **medicinais**, Botucatu, v.17, n.2, 2015.  
388
- 389 7. COSTA, N.C.; JUNIOR, A.F.C.; RAMOS, A.C.C; SOARES, L.P; SCHEIDT,  
390 N. Atividade antimicrobiana e análise fitoquímica preliminar do extrato vegetal de alho  
391 no controle de fungos fitopatogênicos. **Revista verde de agroecologia e**  
392 **desenvolvimento sustentável**, Pombal, v.12, n.1, p.161-166, 2017.  
393
- 394 8. CUNICO, M.M.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D.; CARVALHO, J.L.S.;  
395 PEITZ, C.; AUER, C.G.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A.. Estudo da atividade antifúngica  
396 de *Ottonia martiana* Miq., Piperaceae: um teste *in vivo*. **Visão Acadêmica**, Curitiba,  
397 v.4, n.2, p.77-82, 2003.  
398
- 399 9. DOTTO, M.; PIROLA, K.; WACLAWOVSKY, A.J.; MAZARO, S.M.  
400 WAGNER JUNIOR, A. Aplicação pré-colheita de extratos vegetais em morangueiro.  
401 **Revista Brasileira de Agroecologia**, v.9, n.1, p. 240-247, 2014.  
402
- 403 10. DUBOIS, M.; GILLES, K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; SMITH, F.  
404 Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical**  
405 **Biochemistry**, Orlando, v.28, p.350-356, 1956.  
406



- 407 11. FERREIRA, E.F.; SÃO JOSÉ, A.R.; BOMFIM, M.P; PORTO, J.S.; JESUS, J.S.  
408 Uso de extratos vegetais no controle *in vitro* do *Colletotrichum gloeosporioides* Penz.  
409 coletado em frutos de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Brasileira de**  
410 **Fruticultura**, Jaboticabal, v.36, n.2, p.346-352, 2014.  
411
- 412 12. GERAÍLOO, S.; GHASEMNEZHAD, M. Effect of salicylic acid on antioxidant  
413 enzyme activity and petal senescence in ‘yellow island’ cut rose flowers. **Journal of**  
414 **Fruit and Ornamental Plant Research**, [S.L.], v.19, n.1, p. 183-193, 2011.  
415
- 416 13. GIANNOPOLITIS, C.N.; RIES, S.K. Purification and quantitative relationship  
417 with wa-ter-soluble protein in seedlings. **Journal of Plant Physiology**, [S.l.], v.48,  
418 n.59, p.315-318, 1977.  
419
- 420 14. HILLEN, T.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; MESQUINI, R.M.; CRUZ,  
421 M.E.S.; STANGARLIN, J.R.; NOZAKI, M. Atividade antimicrobiana de óleos  
422 essenciais no controle de alguns fitopatógenos fúngicos *in vitro* e no tratamento de  
423 sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 439-445,  
424 2012.  
425
- 426 15. KOUKOL, J.; CONN, E.E.The metabolismo of aromatic compounds in higher  
427 plants.**The Journal of Biological Chemistry**, [S.l.], v.236, n.10, p.2692-2698, 1961.  
428
- 429 16. LÓPEZ-GÁLVEZ, G.; SALTVEIT, M.; CANTWELL, M. Wound-induced  
430 phenylalanine ammonia lyase activity: factors affecting its induction and correlation  
431 with the quality of minimally processed lettuces. **Postharvest Biology and**  
432 **Technology**, [S.l.], n.9, p.223-233, 1996.  
433
- 434 17. MILLER, G.L. Use of dinitrosalicylic and reagent for determination of reducing  
435 sugar. **Analytical Chemistry**, Washington, v.31, p.426-428, 1959.  
436
- 437 18. MITLER, R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. **Trends in Plant**  
438 **Science**, Ames, v.7, n.9, p. 405-410. Set. 2002.  
439
- 440 19. PEREIRA, M.C.; PEREIRA, M.C.; VILELA, G.R.; COSTA, L.M.A.S; SILVA,  
441 R.F.; FERNANDES, A.F.; FONSECA, E.W.N; PICCOLI, R.H. Inibição do  
442 desenvolvimento fúngico através da utilização de óleos essenciais de  
443 condimentos. **Ciência e Agrotecnologia**, [S.l.], v.30, n.4, p.731-738, 2006.  
444
- 445 20. RODRIGUES, A.A.C.; BEZERRA NETO, E.; COELHO, R.S.B. Indução de  
446 resistência a *Fuzarium oxysporum* f. SP. *tracheiphilum* em caupi: eficiência de  
447 indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, n.31,  
448 p.492-499, 2006.  
449
- 450 21. RODRIGUES, E. Fungitoxicidade, atividade elicitora de fitoalexinas e proteção  
451 de alface em sistema de cultivo orgânico contra *Sclerotinia sclerotiorum* pelo extrato de  
452 gengibre. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.33, n.2, 2007.  
453

- 454 22. SCHWAN-STRADA, K. R. F. Extratos vegetais e de cogumelos no controle de  
455 doenças de plantas. **Horticultura Brasileira**, Maringá, v.27, n.2, 2009.  
456
- 457 23. SHABANA, Y.M.; ABDALLA, M.E.; SHAHIN, A.A; EL-SAWY, M.M;  
458 DRAZ, I.S.; YOUSSEF, A.W. Efficacy of plant extracts in controlling wheat leaf rust  
459 disease caused by *Puccinia triticina*. **Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences**,  
460 [S.l.]. v.4, p.67–73, 2017.  
461
- 462 24. SOARES, R. P. **Atividade biológica dos óleos essenciais de gengibre, açafrão**  
463 **e louro sobre o fungo *Aspergillus carbonarius***. 2009. 79f. Dissertação (Mestrado em  
464 Agroquímica) – Agroquímica, Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2009.  
465
- 466 25. TANAKA, K.; HADWIGER, L.A. Nonhost resistance: Reactive oxygen species  
467 (ROS) signal causes DNA damage prior to the induction of PR genes and disease  
468 resistance in pea tissue. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, [S.l.], n.98,  
469 p.18 – 24, 2017.  
470
- 471 26. WANG, K.; JIN,P.; CAO,S.; SHANG,H.; YANG,Z.; ZHENG, Y. Methyl  
472 Jasmonate Reduces Decay and Enhances Antioxidant Capacity in Chinese Bayberries.  
473 **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, n.57, p.5809–5815, 2009.  
474
- 475 27. WU, C.T.; BRADFORD, K.J. Class I chitinase and beta-1,3-glucanase are  
476 differentially regulated by wounding, methyl jasmonate, ethylene, and gibberellin in  
477 tomato seeds and leaves. **Plant Physiology**, [S.l.], v.133, p.263-273, 2003.  
478
- 479 28. WIRTH S.J.; WOLF, G.A. Micro-plate colourimetric assay for endo-acting  
480 cellulose, xylanase, chitinase, 1,3- $\beta$ -glucanase and amylase extracted from forest soil  
481 horizons. **Soil Biology and Biochemistry**, [S.l.], n.24, p.511-519, 1992.  
482
- 483 29. ZERAIK, A.E.; SOUZA, F.S.; FATIBELO-FILHO, O. Desenvolvimento de um  
484 spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de  
485 purificação. **Química nova**, São Paulo, v. 31, p. 527-533, 2008.

## ANEXOS

### Anexo 1. Instruções aos autores, revista Summa Phytopathologica



ISSN 0100-5405 versão  
impressa

### Escopo e política

**Summa Phytopathologica (SP)** é um periódico direcionado para publicações de trabalhos de pesquisa, originais na área de fitopatologia, publicado trimestralmente, desde 1975. Atualmente está no volume 32.

**SP** é uma publicação oficial do Grupo Paulista de Fitopatologia, (GPF) que possui cerca 500 associados de vários estados do Brasil e países da América Latina. Os trabalhos de pesquisadores não associados também são aceitos, uma vez que, respeite as normas de publicação, aspectos éticos, legislação vigente e normas da biossegurança.

### Forma e preparação de manuscritos

#### MODALIDADES DE PUBLICAÇÃO

**1. Artigos científicos:** trabalhos de pesquisa científica inédita e conclusiva. Grafado em português, inglês ou espanhol. Deverá ter, no máximo, vinte laudas digitadas em espaço duplo. Não deverá ultrapassar trinta referências bibliográficas. O texto deverá conter os seguintes itens:

**Português:** Resumo, abstract, introdução, material e métodos, resultados e discussão, agradecimentos, referências bibliográficas.

**Inglês:** Abstract (in english and in portuguese), material and methods, results and discussion, acknowledgments, references.

**Espanhol:** Resumen (en español y en portugués), abstract, material y métodos, resultados y discusión, agradecimientos, referencias bibliográficas.

**2. Revisões:** texto sobre assunto específico o qual enfoca novos conceitos, hipóteses, discussões ou que promova a integração da Fitopatologia com outras ciências, atendendo, preferencialmente, a solicitação da Comissão Editorial. Deverá ter no máximo vinte laudas digitadas em espaço duplo e não ultrapassar sessenta referências. O

texto deverá conter os seguintes itens:

**Português:** Resumo, abstract, texto, referências bibliográficas.

**Inglês:** Abstract (in english and in portuguese), text, references.

**Espanhol:** Resumen (en español y en portugués), abstract, texto, referencias bibliográficas.

**3. Notas científicas:** trabalhos de pesquisa científica inédita, que seja recente e de interesse para uma rápida divulgação. Deverá ter no máximo seis laudas digitadas em espaço duplo, uma tabela e uma figura. Não deverá ultrapassar dez referências bibliográficas. O texto deverá conter os seguintes itens:

**Português:** Resumo, abstract, texto, agradecimentos, referências bibliográficas.

**Inglês:** Abstract (in english and in portuguese), text, acknowledgments, references.

**Espanhol:** Resumen (en español y en portugués), abstract, texto, agradecimientos, referencias bibliográficas.

**4. Notas técnicas:** técnicas novas, produtos e patentes. Deverá apresentar resumo, abstract, texto sem divisão de tópicos, referências bibliográficas. Deverá ter no máximo seis laudas digitadas em espaço duplo, uma tabela e uma figura. Não deverá ultrapassar dez referências bibliográficas.

**Português:** Resumo, abstract, texto, agradecimentos, referências bibliográficas.

**Inglês:** Abstract (in english and in portuguese), text, acknowledgments, references.

**Espanhol:** Resumen (en español y en portugués), abstract, texto, agradecimientos, referencias bibliográficas.

**5. Comunicações:** a) constatação de uma nova doença ou de novo patógeno. Caso trate da primeira detecção no país, deve constar o parecer técnico do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, autorizando a divulgação. b) resultados dos testes de controle de doenças (químico ou biológico) desde que não efetuados "in vitro". Sem resumo, abstract ou divisão em tópicos, contendo no máximo duas laudas, digitados e uma figura ou tabela, sem citação bibliográfica.

**6. Serviços:** a) divulgação de notícias, que tenham interesse para os fitopatologistas; b) resenha de livros; c) abstracts de teses e dissertações defendidas por sócios do GPF; d) notícias dos congressos

e resoluções das assembleias.

**7. Cartas ao editor:** documento encaminhado para publicação, sobre tema de relevância para apresentar sugestões ou incitar discussões. Podem ser publicadas a réplica e a tréplica.

### **Envio de manuscritos**

O trabalho deve conter o nome completo dos autores, sem abreviação. Um dos mesmos deverá ser nomeado para se responsabilizar pelas correspondências e troca de informações com a Comissão Editorial (**CE**) e Conselho Editorial (**CO**), cujo nome e endereço completo da instituição constará no cabeçalho do trabalho publicado. No caso de nenhum dos autores pertencer à Associação Paulista de Fitopatologia (**APF**), deverá ser recolhida uma taxa correspondente a cem reais (R\$ 100,00), para a tramitação do manuscrito, em cheque nominal à **APF**.

Os artigos para publicação poderão ser submetidos à Comissão Editorial da **Summa Phytopathologica (SP)**, eletronicamente, ou gravados em CD, juntamente com a impressão em quatro vias acompanhadas de uma declaração de exclusividade do trabalho à **SP** e a anuência de todos os autores. Após o recebimento e exame do manuscrito, pela **CE**, quanto a adequação do tema ao periódico, às normas propostas e inovação. Os autores serão notificados por carta sobre a aceitação ou da necessidade de readequação do texto, ou mesmo de alterações na modalidade de publicação, para nova submissão. Após o aceite para tramitação, cópias do trabalho apócrifas, serão encaminhadas a três assessores *ad hoc* (**AH**), especialistas da área, previamente selecionados pela Comissão Editorial (**CE**) e Conselho Editorial (**CO**).

Estes **AHs** preencherão uma ficha de avaliação, encaminhada junto com o trabalho, aceitando ou negando a publicação e fazendo sugestões para a melhoria do texto quanto a forma, estrutura, atualização metodológica e bibliográfica. Enviando tudo para a **CE** e **CO**, em 45 dias. Após o recebimento dos três pareceres e o trabalho ter sido aceito, por pelo menos dois assessores, uma das cópias será submetida à correção do "abstract" e adequação às normas de citação bibliográfica. Após todas as correções, o autor receberá esse material e os pareceres dos assessores, também sem o nome dos mesmos, juntamente com o disquete ou CD, para conhecimento e tomada de providências na readequação do texto e novo encaminhamento. Este deverá ser feito através de duas cópias atualizadas impressas e o CD, para a Comissão Editorial (**CE**) e Conselho Editorial (**CO**), que após averiguação quanto às correções, propostas pelos assessores, e análise das justificativas dos autores, encaminharão o trabalho para a editoração e o mesmo será considerado aceito para publicação. Caso contrário o trabalho será devolvido, mais uma vez, aos autores para as devidas correções.

O(s) autor(es) que não tiver(em) seu texto aprovado, receberá(ão) todas as cópias de volta, juntamente com o disquete ou CD.

No que se refere às ilustrações no trabalho, se estas forem em preto e branco não onerarão o(s) autor(es). Porém, se forem coloridas, estes devem cobrir o custo adicional das páginas publicadas em cores, após receber o aviso da aceitação do trabalho para publicação.

No caso de haver conflitos de interesse, os autores devem se manifestar por carta, através do autor responsável pela correspondência, a qual será analisada pela Comissão Editorial (**CE**) e se necessário submetida ao Conselho Editorial (**CO**).

### **Prova tipográfica**

Após a editoração e primeira impressão, uma cópia do trabalho será encaminhada aos autores, para a prova tipográfica, ou revisão do texto, que assinalarão as correções em tinta vermelha e devolverão em cinco dias úteis à Comissão Editorial (**CE**). No caso de ultrapassar este prazo, o trabalho será arquivado para ser publicado em números posteriores do periódico.

### **Normas da Redação**

Todos os trabalhos deverão ser digitados em folha tamanho A4 (210 x 297 mm), espaço duplo, com margens de 3 cm, numerando-se as linhas e páginas. As letras devem seguir padrão "Times New Roman" tamanho 12.

Ao final do resumo e do abstract deverão conter, no idioma correspondente, palavras chaves adicionais ( não mais que cinco e diferentes do título).

Tabelas, figuras, desenhos, fotografias e gráficos, deverão ser apresentados separadamente no final do manuscrito. O local de inserção no texto deverá conter a chamada: Inserir Figura 1; inserir Tabela 1, etc.

O título da tabela constará na parte superior e o da figura na parte inferior, ambos ocupando toda a largura das mesmas. As palavras Figura e Tabela, conjuntamente com o número correspondente devem ser escritas em negrito. As notações (números, letras e símbolos) constantes nas tabelas e figuras, deverão ter tamanho não inferior a 10. As figuras, na forma de gráficos, deverão ter fundo branco e com bordas.

Fotos e montagens fotográficas deverão ser fornecidas em papel brilhante no tamanho A4 (210 x 297 mm), em JPEG, 300 dpi.

As citações bibliográficas no texto deverão ser:

a) expressas na forma numérica. Uma vez os autores fazendo parte de contexto da frase devem ser grafados com somente as iniciais em maiúsculas, seguindo-se o número da citação entre

parênteses. **Exemplo:** Figueiredo (6).

b) quando o trabalho tiver mais de dois autores citar o primeiro seguido de et al.; quando forem dois autores utilizar o & (e comercial). **Exemplo:** Figueiredo & Coutinho (7).

c) comunicação pessoal deve constar como nota de rodapé, contendo dados sobre o informante e a data (mês e ano) da informação.

d) quando tiver mais de uma citação, colocar no texto em ordem numérica crescente (6, 7, 18).

e) na numeração da citação não utilizar zero antes da unidade.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As referências bibliográficas no fim do texto deverão ser apresentadas em ordem alfabética e numeradas, nos seguintes formatos:

### ARTIGO DE PERIÓDICO

FORMATO: Autor(es). Título do artigo. **Título do periódico**, cidade, volume, número, paginação inicial-final, ano. **Exemplos:**

1. Costa, A.S. História da fitopatologia no Brasil. **Summa Phytopathologica**, Campinas, v.1, n.3, p.155-163, 1975.

2. Leite, R.M.V.B.C.; Amorim, L. Elaboração e validação de escala diagramática para mancha de *Alternaria* em girassol. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.28, n.1, p.14-19, 2002.

3. Micheref, S.J.; Mariano, R.L.R.; Padovan, I.; Menezes, M. Observações ultraestruturais das interações entre *Colletotrichum graminicola* e agentes biocontroladores no filoplano de sorgo. **Summa Phytopathologica**, Jaguariúna, v.19, n.2, p.99-101, 1993.

### ARTIGO DE PERIÓDICO EM MEIO ELETRÔNICO

FORMATO: Autor(es). Título do artigo. **Título do periódico**, cidade, volume, número, paginação inicial-final, data. Disponível em: <http: endereço eletrônico>. Acesso em: dia mês (abreviado). ano. **Exemplos:**

1. Lamari, L. **Assess:** Image analysis software for plant disease quantification. St. Paul: APS Press, 2002. 1CD-ROM.

2. São Paulo. (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente. In: **Entendendo o meio ambiente**. São Paulo, 1999. v.1 Disponível

em: <<http://www.dbt.org.br/sma/entendendo/atual.htm>>. Acesso em: 8 mar. 1999.

## LIVRO

FORMATO: Autor(es). **Título:** sub-título. Edição. Local de publicação: Editora, ano de publicação. nº do volume e/ou total de páginas (nota de série). **Exemplos:**

1. Kimati, H.; Gimenes-Fernandes, N.; Soave, J.; Kurozawa, C.; Brignani Neto, F.; Bettiol, W. **Guia de fungicidas agrícolas:** recomendações por cultura. 2.ed. Jaboticabal: Grupo Paulista de Fitopatologia, 1997. v.1, 224p.
2. Lucas, J.A. **Plant pathology and plant pathogens.** 3rd ed. Oxford: Blackwell Science, 1998. 274p.

## CAPÍTULO DE LIVRO

FORMATO: Autor(es) do capítulo. Título do capítulo ou parte referenciada. In: Autor ou Editor. **Título da publicação no todo.** Edição. Local de publicação: Editora, ano de publicação. volume, nº do capítulo e/ou página inicial-final da parte referenciada.

### Exemplo:

1. Reis, E.M.; Casa, R.T. Cereais de inverno. In: Vale, F.X.R.; Zambolim, L. **Controle de doenças de plantas:** grandes culturas. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. v.1, cap.5, p.231-287.

## LIVRO EM MEIO ELETRÔNICO

FORMATO: Autor(es). **Título:** subtítulo. Edição. Local de publicação: Editora, ano de publicação. nº do volume e/ou total de páginas. (nota de série). Número de CD-ROM.

### Exemplo:

1. Lamari, L. **Assess:** Image analysis software for plant disease quantification. St. Paul: APS Press, 2002. 1 CD-ROM.

FORMATO: Autor(es). **Título:** subtítulo. Edição. Local de publicação: Editora, ano de publicação. nº do volume e/ou total de páginas. (nota de série). Disponível em: <endereço eletrônico>. Acesso em: dia. mês abreviado. Ano.

### Exemplo:

2. São Paulo (Estado). Secretaria do Meio Ambiente. **Tratados e organizações ambientais em matéria de meio ambiente.** São



Paulo, 1999. v. 1: Entendendo o meio ambiente. Disponível em: <<http://www.bdt.fat.org.br/sma/entendendo/indic1>>. Acesso em: 26 abr. 2006.

## DISSERTAÇÃO E TESE

FORMATO: Autor. **Título**. Data. Número de folhas ou volumes. Categoria da Tese (Grau e Área de Concentração) – Nome da Faculdade, Universidade, cidade. **Exemplo:**

1. Izioka, E.E.K. **Caracterização morfológica, patogênica e molecular de *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.)Penz. & Sacc., agente causal da podridão floral do citros.** 1995. 138f. Tese (Doutorado em Genética) – Instituto de Biociências - Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

## PARTE DE EVENTOS EM ANAIS

FORMATO: Autor(es) do trabalho. Título do trabalho. In: Nome do evento, número., ano, cidade de realização. **Título**. Cidade de publicação: Editora, ano. página inicial-final do trabalho. **Exemplo:**

1. Melo, I.S. de. Controle biológico de doenças de raiz. In: Reunião sobre controle biológico de doenças de plantas, 1., 1986, Piracicaba. **Anais**. Campinas: Fundação Cargill, 1986. p.7-12.

## PARTE DE EVENTOS EM MEIO ELETRÔNICO

FORMATO: Autor. Título do trabalho. In: Nome do evento, número do evento, ano, cidade de realização. Título. Cidade de publicação: Editora, ano. número de CDs.

### Exemplo:

1. Jerba, V.F.; Rodella, R.A.; Furtado, E.L. Análise pré-infeccional do desenvolvimento de *Glomerella cingulata* na superfície foliar de cultivares de feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). In: Reunion Latinoamericana de Fisiologia Vegetal, 11., 2002, Punta del Este. Actas. Córdoba: Ediciones del Copista, 2002. 1 CD-ROM.

## PARTE DE EVENTO EM PERIÓDICO

FORMATO: Autor(es). Título do artigo. **Título do periódico**, cidade, volume, número, paginação inicial-final, ano. (Resumo). **Exemplo:**

1. Kitajima, E.W.; Coletta Filho, H.D.; Machado, M.A.; Novas, Q.S. Escaldadura das folhas em *Hibiscos schizopetalus* associada à infecção por *Xylella fastidiosa* em Brasília, DF. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.25, supl., p.323-323, 2000. (Resumo).

## ABSTRACTS

FORMATO: Autor(es) do artigo. Título do artigo. **Título do Periódico**, cidade, volume, número do fascículo, página inicial-final do artigo, ano. In: **Título do Abstract**, cidade, volume, número, ano. (Abstract número de referência). **Exemplo:**

1. Katis, N.; Gibson, R.W. Transmission of potato virus y by cereal aphids. **Potato Research**, Wageningen, v.28, n.1, p.65-70, 1985. In: **Review of Plant Pathology**, London, v.65, n.8, p.445, 1986. (Abstract 4038).

## DESCRITORES

Nos nomes científicos utilizar a nomenclatura binomial latina, com o nome genérico e específico por extenso. Acrescentar a autoridade, ou descritor, na primeira vez que for feita a citação no corpo do trabalho. Nas vezes subseqüentes em que for escrito no texto, poderá fazê-lo na forma abreviada para o gênero. **Exemplo:** *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc., na primeira vez e *C. gloeosporioides*, nas subseqüentes.

Os *Vírus* devem ser designados pelo nome das respectivas espécies (normas do ICTV) em inglês, itálico e primeira letra maiúscula para espécies reconhecidas pelo ICTV, seguido das siglas. Nas vezes subseqüentes usar apenas a sigla correspondente. **Exemplo:** *Cucumber mosaic virus*, CMV.

## ABREVIações

Peso molecular expresso em Daltons (Da) ou Kilo Dalton (KDa). Sistema métrico: usar L (litro), mL (mililitro),  $\mu$ L (microlitro), não usar ppm (parte por milhão) e sim  $\mu$ g/mL, não usar ton. (toneladas) e sim megagramas.

Unidades de tempo: segundos (s), minutos (min) e horas (h).

Unidades de temperatura expressos em graus Celsius. **Exemplo:** 25 °C.

Produtos químicos: utilizar nomes técnicos (princípio ativo) com iniciais minúsculas.

## CASOS OMISSOS

Orientações não previstas nestas normas serão dadas pela Comissão Editorial (**CE**), após ouvido o Conselho Editorial (**COE**) e assessores "ad-hoc" (**AHs**)