

FUNGITOXIDADE DO ÓLEO ESSENCIAL DE GUAÇATONGA, *Casearia sylvestris*, NO DESENVOLVIMENTO *IN VITRO* DE FUNGOS FITOPATOGÊNICOS E AVALIAÇÃO *IN VIVO* EM PLANTAS DE BETERRABA PARA O CONTROLE DE CERCOSPORIOSE

Leticia Boruch¹, Tayná Jordana Ben¹, Carla Garcia^{2*}, Leandro Alvarenga dos Santos³, Cacilda Márcia Duarte Rios Faria²

¹ Centro Universitário Campo Real - Rua Comendador Norberto, 1299 – CEP 85015-240 -Bairro Santa Cruz, Guarapuava, Pr.

² Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO) – Rua Alameda Élio Antonio Dalla Vecchia, 838 – CEP 85040-167 – Bairro Vila Carli, Guarapuava, Pr.

³ Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS) - Av. Transnordestina, s/n – CEP 44036-900- Bairro Novo Horizonte - Feira de Santana, BA.

*Autor correspondente: Carla Garcia, carlagarciaagro@gmail.com

RESUMO: Fitopatógenos interferem de forma negativa na produção e na qualidade final dos produtos agrícolas comercializados. O trabalho tem como objetivo verificar o controle alternativo dos fungos *Cercospora beticola* sacc, *Phytophthora infestans* e *Colletotrichum lindemuthianum*, utilizando as doses 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo essencial de guaçatonga, em comparação a testemunha com somente água. Avaliou-se *in vitro* o potencial do óleo essencial de guaçatonga OEG (*Casearia sylvestris*) em comparação ao índice do crescimento micelial (IVCM), e *in vivo* a severidade da cercospora em plantas de beterraba, também se determinou o potencial do OEG em induzir mecanismo de resistência. Examinou-se a atividade da enzima peroxidase. Dessa forma, adicionou-se o óleo em placas de Petri para experimento *in vitro* e para *in vivo* pulverizou-se semanalmente o óleo sobre as plantas acondicionadas em casa de vegetação. Determinou-se o efeito direto do óleo sobre os fungos e o controle de cercospora nas folhas de beterraba, e a atividade da enzima peroxidase. Verificou-se que o óleo não apresentou efeito direto sobre a *C. beticola* *in vitro*, mas sim sobre os outros dois fungos obteve redução sobre o IVCM, e ativou simultaneamente mecanismos de defesa sobre as plantas de beterraba. Assim, pode se dizer que o, OEG apresenta a capacidade de agir diretamente sobre os patógenos *Phytophthora infestans*, *Colletotrichum lindemuthianum* e induzir a resistência de plantas beterraba contra *Cercospora beticola*.

PALAVRAS CHAVE: *Cercospora beticola* sacc; peroxidase; controle-alternativo.

ABSTRACT: Phytopathogens interfere negatively in the production and final quality of agricultural products sold. Therefore, the work has as purpose verifies the alternative control of fungus *Cercospora beticola* sacc, *Phytophthora infestans* e *Colletotrichum lindemuthianum*, using the doses 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 $\mu\text{L mL}^{-1}$ of guaçatonga essential oil (GEO), comparing testify with only water. It evaluated *in vitro* the potencial to GEO from comparing as mycelial growth rate (MGR), and *in vivo* the severity of cercospora in beet plants, also it determined the potencial of GEO on induces the resistance mechanism. It examined the peroxidase enzyme activity. This way, it packaged the oils in petri dishes to experiment *in vitro* and to *in vivo* it sprayed weekly the oil on packaged plants in vegetation house. It was determined the straight effect from oil on fungus and the cercospora control on the beet leaves and the peroxidase enzyme activity. It was verified that the essential oil did not present straight effect on the *C. beticola* *in vitro*, however it did on the others two fungus those achivied decrease on about the MGR, that activated simultaneously mechanism of defense on beet plants. Therefore, we can cite that the GEO presents the ability to act straight on the pathogens *Phytophthora infestans*, *Colletotrichum lindemuthianum* and induce the resistance of beet plants against *Cercospora beticola*.

KEYWORDS: *Cercospora beticola* sacc; peroxidase; alternative control

INTRODUÇÃO

O uso crescente de agrotóxicos para o controle de doença em plantas pode acarretar em danos ambientais e de saúde pública. No que se refere ao meio ambiente pode-se ressaltar contaminações dos rios e dos solos devido aos resíduos deixado dos produtos químicos. Destaca-se também que o grau de exposição a esses defensivos agrícolas pode ocasionar consequências negativas para a saúde humana, podendo causar sintoma simples como dor de cabeça e até mesmo mais graves como perda de audição e tumores (Santana et al., 2013).

Há uma grande procura por produtos que sejam rentáveis e viáveis para o controle das doenças (Balbi-Peña et al., 2006). Com isso tem-se o emprego de testar produtos naturais visando um tratamento alternativo no manejo fitossanitário, afim de, tentar diminuir ou substituir o uso de agroquímicos (Ventuoso et al., 2011).

Dessa forma verifica-se que as plantas medicinais respondem as perspectivas de reduzir ou substituir o uso desses produtos, por apresentarem capacidade de controlar fitopatógenos. Dentre esses potenciais pode-se relacionar a ação fungitóxica direta, inibindo o crescimento micelial e a germinação de esporos, quanto por sua capacidade de induzir resistência, indicando a presença de compostos com características de eliciadores (Schwan-Estrada et al., 2005).

Dentre os produtos extraídos das plantas medicinais, estão os óleos essenciais que apresentam em suas composições químicas substâncias que podem desencadear efeito fungitóxico e/ou fungistático sobre microrganismos afetando sua virulência de acordo com sua síntese proteica (Liñeiro et al., 2016).

Assim destaca-se o óleo essencial de guaçatonga (*Casearia sylvestris* Sw.) por constiur compostos com atividades antibacterianas e, principalmente antifúngicas, como biciclogermacreno, β -cariofileno, α - pineno, germacreno, globulol, α -muuroleno, σ -Amorfeno, e α -Zingibereno (Garcia, 2018). Além de apresentar a capacidade de induzir mecanismos de defesa, de acordo com a atividade das enzimas polifenoloxidase e glucanase que, conseqüentemente, reduz o desenvolvimento de doenças (Garcia et al., 2019).

O objetivo do trabalho é verificar o efeito fungitóxico do óleo essencial de guaçatonga (*C.*

sylvestris) sobre o crescimento micelial *in vitro* da *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. et Magn.), *Cercospora beticola* Sacc, e indução de resistência em plantas de beterraba contra a Cercosporiose.

MATERIAL E MÉTODOS

Local do experimento

Os experimentos *in vitro* foram conduzidos nos Laboratórios de Fitopatologia e de Análise da qualidade pós-colheita de frutas e hortaliças e os *in vivo* em casa de vegetação. Todos os locais pertencentes ao Departamento de Agronomia (DEAGRO) da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Guarapuava, Paraná.

Tratamentos utilizados nos experimentos

Os tratamentos utilizados nos experimentos foram compostos por testemunha (somente meio batata dextrose ágar (BDA) para ensaio *in vitro* e água esterilizada para o *in vivo*) e as doses de 0,20; 0,40; 0,60 e 0,80 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo essencial guaçatonga (OEG) diluído em tween 80 (mesma concentração de cada dose) e o tratamento padrão com Amistar® wg (0,016g 100L^{-1} , dose recomendada do produto) para *Cercospora beticola* e *Colletotrichum lindemuthianum* e para a *Phytophthora infestans* o tratamento padrão utilizado foi o Forum® (0,13g 100L^{-1} , dose recomendada do produto).

Ensaio *in vitro*: Crescimento micelial de *Cercospora beticola* Sacc, *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary e *Colletotrichum lindemuthianum* Sacc. Magnus

Em meio de cultura BDA autoclavado por 20 minutos a 120°C sob pressão de 1 atm, foi adicionado os tratamentos e em seguida verteu-se em placas de Petri que ficaram acondicionadas em sala climatizada com temperatura de 25°C e fotoperíodo de 12 horas. Após 48 horas da instalação do experimento, avaliou-se diariamente o crescimento micelial pelo diâmetro da colônia, até que o tratamento testemunha crescesse em toda a placa, totalizando, doze avaliações da *C. beticola*, quatro de *P. infestans* e seis avaliações de *C. lindemuthianum*. Esses dados foram utilizados no cálculo do índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), conforme a fórmula:

D= diâmetro médio atual da colônia
 Da= diâmetro médio da colônia do dia anterior
 N= número de dias após a inoculação (ARAÚJO et al., 2008).

Ensaio *in vivo*: Cultivo e tratamento das plantas, inoculação e avaliação da severidade da cercosporiose

Os experimentos em casa de vegetação foram realizados com plantas de beterrabas oriundas de sementes comerciais cultivar Maravilha (Sementes Vidasul®, EUA), que foram semeadas em bandeja de isopor de 128 células em substrato (Plantmax®), sendo distribuídos dois glomérulos por célula. Aos 19 dias, quando as mudas já estavam em crescimento, realizou-se o desbastes deixando apenas uma planta por célula. Mudas com 15 dias após a semeadura foram transplantadas para vasos de capacidade de 2 L (uma planta por vaso) contendo solo e substrato (Plantmax®) na proporção 2:1. A irrigação foi realizada diariamente, com auxílio de um regador mantendo sempre o solo úmido.

As plantas foram tratadas quando apresentavam em média seis folhas. As pulverizações tanto das plantas quanto do inoculo, foram realizadas com auxílio de um pulverizador borrifador manual com capacidade de 300 mL, até o ponto de gotejamento aplicando cerca de 10 mL por planta.

A primeira aplicação sobre as plantas com os tratamentos foi realizada após 20 dias do transplante das mudas. Seguiu-se esse procedimento semanalmente até a totalização de seis aplicações.

A suspensão para a inoculação foi preparada e aplicada sobre as plantas passados 30 dias do transplante das mudas. Dessa forma foram utilizados 10 mL de água da torneira, realizado raspagem nas placas com o auxílio da alça de drigalski para a remoção dos micélios e dos esporos de *C. beticola*. Em seguida realizou-se a maceração dessa suspensão em cadinho e efetuou-se a contagem dos esporos em câmara de Neubauer padronizando-a em $3,7 \times 10^5$ esporos mL⁻¹.

Para a avaliação da severidade da cercosporiose nas plantas de beterraba, avaliou-se cinco folhas previamente marcadas e adotou-se a escala diagramática de análise visual proposta por May de Mio (2008) da porcentagem de área foliar afetada. Com os dados da severidade foi determinada a área

abaixo da curva de progresso das doenças (AACPC), baseado na fórmula (Campbell & Madden, 1990):

y = severidade da doença (%)
 t = tempo (dias)

No total foram realizadas cinco avaliações com intervalos de sete dias, nas duas primeiras e as demais a cada dois dias devido a elevada severidade da cercosporiose.

Determinação da atividade de peroxidase (POD)

Nas mesmas plantas que determinou-se a AACPD da cercosporiose, foram coletados discos foliares para a determinação de proteínas totais e a atividade específica da peroxidase (POD) (E.C. 1.11.1.7). Sendo realizadas três coletas, a primeira 24 horas antes da quarta pulverização dos tratamentos (24 HAP), a segunda 24 horas antes da inoculação de *C. beticola* (24 HAI) e a terceira 24 horas depois da inoculação (24 HDI).

Logo após as coletas as amostras eram imediatamente armazenadas em papel alumínio, refrigeradas em gelo e, em seguida, acondicionadas em freezer a -20°C até o preparo de extratos para as análises bioquímicas. Essas amostras de discos de folhas foram em seguida pesados, macerados em almofariz com nitrogênio líquido e homogeneizados mecanicamente em 4 mL de tampão fosfato de potássio 50 mM (pH 7) contendo 0,1 mM de EDTA. Essa solução foi transferida para tubo tipo eppendorf contendo 0,0003g de polivinilpirrolidona (PVP) e centrifugado a 15000g durante 40 minutos a 4°C. O extrato enzimático foi obtido do sobrenadante dessa centrifugação que foi armazenado em freezer -20°C (Kar e Mishra, 1976), até a realização das análises de determinação de proteínas totais e a atividade específica da enzima peroxidase (POD).

Para a determinação do conteúdo proteico total foi utilizado 100 µL do extrato enzimático adicionado sob agitação em 2,5 mL do reagente Bradford. Passados 5 minutos foi efetuada a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda de 595 nm. A concentração de proteínas, expressa em mg por mL de amostra (mg proteína. mL⁻¹), foi determinada utilizando-se curva-padrão de concentrações de albumina de soro bovino (ASB) de 0 a 0,5 mg mL⁻¹, obtida pelo método de Bradford (Bradford, 1976).

A atividade específica da peroxidase (POD) foi determinada de acordo com metodologia de Urbanek et al. (1991). Adicionou-se 100 μL de extrato enzimático em 2,9 mL de solução contendo tampão acetato de sódio 50 Mm pH 5,2 e peróxido de hidrogênio 20 mM. Em seguida, essa solução foi incubada em banho maria por 10 minutos em temperatura de 30°C. Posteriormente, foi efetuada a leitura em espectrofotômetro à 480 nm. A atividade da POD foi expressa em U A $\text{mg}^{-1} \text{min}^{-1}$, ou seja, uma unidade dessa enzima foi definida como a mudança de 1,0 unidade de absorvância (480nm) por miligrama de proteína solúvel por minuto.

Delineamento experimental e análise estatística

Para o crescimento micelial o delineamento experimental foi inteiramente casualizado e o *in vivo* em blocos ao acaso. Ambos apresentaram seis tratamentos e cinco repetições.

Todos os dados foram submetidos à análise de variância (teste F), sendo as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade e, quando significativo realizado a regressão das doses, utilizando o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2011).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

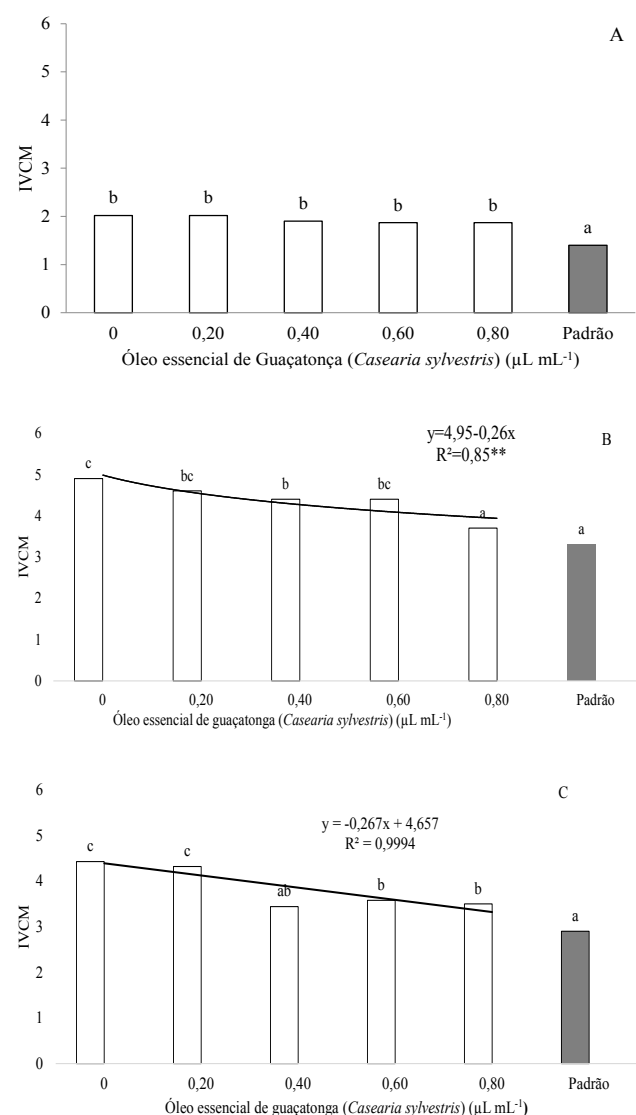
Ensaio *in vitro*: Crescimento micelial de *Cercospora beticola*, *Phytophthora infestans* e *Colletotrichum lindemuthianum*

Com relação aos resultados obtidos do IVCM de *C. beticola* não houve regressão das doses do OEG. Ressalta-se que somente o tratamento padrão apresentou diferença estatística em relação aos demais, apresentando redução de 26,7% quando comparado com a testemunha (Figura 1A).

Para *P. infestans* houve regressão linear das doses do OEG, sendo que a de 0,80 $\mu\text{L mL}^{-1}$ reduziu em 25% o IVCM do patógeno em relação ao tratamento testemunha. Destaca-se também que esse tratamento não apresentou diferença estatística com o padrão (Figura 1B).

Também observou-se regressão linear para o IVCM de *C. lindemuthianum*, sendo que as doses de 0,40; 0,60; 0,80 $\mu\text{L mL}^{-1}$ reduziram em 22,4%, 21% e 19,2%, respectivamente (Figura 1C).

Figura 1. Índice de velocidade do crescimento micelial (IVCM) de *Cercospora beticola*, *Phytophthora indestans* e *Colletotrichum lindemuthianum*, submetidos as doses, 0,20; 0,40; 0,60; 0,80 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo essencial de guaçatonga (*Casearia sylvestris*) (OEG) o tratamento testemunha, contendo somente meio BDA (batata ágar dextrose) e padrão com Amistar® (0,016g 100L⁻¹, dose recomendada do produto) para *C. beticola* e para os demais Forum® (0,13 g 100L⁻¹, dose recomendada) (Guarapuava, 2020).



Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O OEG apresenta em sua composição monoterpenos e sesquiterpenos que apresentam o potencial de reduzir o desenvolvimento de fungos fitopatogênicos (Garcia et al., 2019). Essa capacidade pode ser associada ao OEG ser uma substância lipofílica de fácil acesso a membrana plasmática do patógeno fúngico, o que acarreta em alterações em

sua permeabilidade e em seguida rompimento da membrana mitocondrial que ocasiona mudanças no fluxo de elétrons e, conseqüentemente danos no conteúdo celular (Aktar et al., 2014). Esse processo acarreta em redução no desenvolvimento e crescimento micelial do fitopatógeno.

Porém ressalta-se que nem todos os fungos apresentam a mesma sensibilidade aos componentes presentes nos óleos essenciais (Tomazoni et al., 2017). Fato observado no IVCM de *C. beticola*, a ausência de controle que poderia ser obdita pelo OEG pode estar relacionada com a expressão do gene AVR4, comumente verificados nesse fungo. Esse gene permite elevada adesão da quitina na sua parede celular consistindo a proteção das hifas, também facilita a síntese de cercosporina, substância tóxica que aumenta a virulência desse fitopatógeno e favorece a infecção nas folhas de beterraba (Rezende et al., 2020).

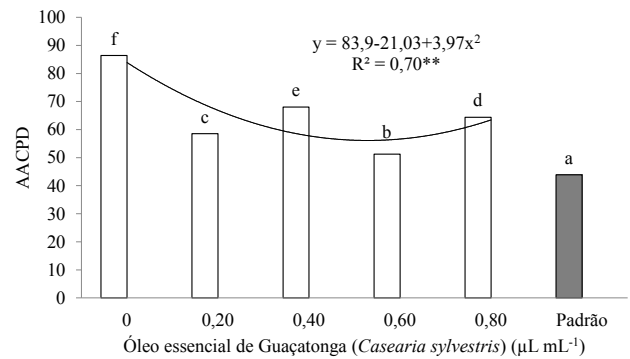
Resultados encontrados por Batista et al. (2017) que testou o efeito dos óleos de *Salvia hispanica* L. (chia), *Melaleuca alternifolia* Cheel. (melaleuca) e *C. sylvestris* (guaçatonga) para controle de *Rizoctonia* sp. na concentração de 1,0 μL , verificou que o de melaleuca inibiu em 15% o crescimento micelial, já o de guaçatonga e chia apresentaram efeito contrário, se desenvolvendo mais que ao tratamento testemunha, aumentando o diâmetro da colônia. Russiano et al. (2019) também ressaltam que a concentração de 5% de óleo essencial de guaçatonga reduz em 19,17% o crescimento micelial de *Pinicilium* sp. Logo a efetividade antifúngica do óleo essencial depende tanto da sua concentração como da sensibilidade do fitopatógeno aos seus constituintes.

Ensaio *in vivo*

Efeito do óleo essencial de guaçatonga, *Casearia sylvestris*, em plantas de beterrabas em condições de casa de vegetação

Os resultados referentes a AACPD da cercosporiose nas folhas de beterraba apresentaram regressão quadrática das doses. Ressalta-se que as doses 0,20 e 0,60 μL^{-1} de OEG reduziram em 32,25% e 40,65%, respectivamente a AACPD, quando comparada com a testemunha. Destaca-se que o percentual de inibição do tratamento padrão foi de 49,23% também em relação a testemunha (Figura 2).

Figura 2. Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) de cercospora em plantas de beterraba em casa de vegetação, tratadas com as doses de 0,20; 0,40; 0,60; 0,80 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo essencial de guaçatonga (OEG) (*C. sylvestris*) testemunha (água) e o padrão com Amistar® (0,016g 100L⁻¹) (Guarapuava, 2020).



Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A cercosporiose da beterraba é considerada uma doença destrutiva que ocasiona redução na produtividade da cultura. Esse efeito é dependente da virulência do patógeno que está ligado, principalmente a produção de cercosporina. Essa toxina pode absorver energia da luz e energeticamente reagir com o oxigênio, formando espécies reativas ao oxigênio que resultam na peroxidação dos lipídios presentes na membrana plasmática das folhas de beterraba. Dessa forma ocorre o extravazamento do conteúdo celular e o patógeno promove seu crescimento e propagação de suas hifas via intracelular (DAUB e Briggs, 1983; Bolton et al., 2017). Essa toxina também permite a proteção das hifas (Rezende et al., 2020) o que, possivelmente, dificulta a ação dos compostos antifúngicos presentes no OEG. Porém ressalta-se que mesmo nessas condições a dose de 0,60 μL^{-1} mostrou-se eficiente para reduzir a AACPD da cercosporiose em beterraba. Destaca-se a ausência de efetividade do OEG na dose de 0,80 μL^{-1} , fato que pode estar relacionado a elevadas temperaturas no interior da casa de vegetação que aceleraram a volatilização do óleo essencial e a rápida redução de seus componentes majoritários (Soares et al., 2007).

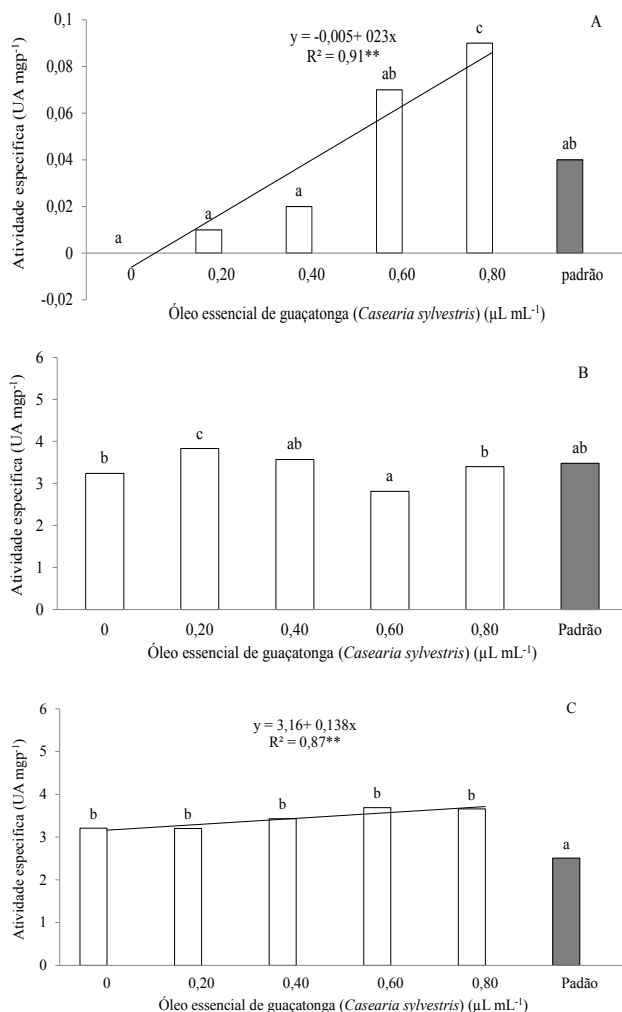
Nesse sentido o OEG apresenta seletividade de acordo com a dose para controlar a cercosporiose. Porém destaca-se que a aplicação de óleos essenciais, possui a vantagem de produzir plantas orgânicas livres de produtos tóxicos que podem fazer mal a saúde humana e ao meio ambiente (Shuping e Eloff, 2017).

Efeito do óleo essencial de guaçatonga, *Casearia sylvestris*, na indução de resistência de plantas de beterraba contra a cercosporiose (*Cercospora beticola* sacc.)

Peroxidase

Com relação à atividade específica de POD em 24 HAP e 24 HDI houve regressão linear das doses do OEG. Destaca-se que a dose de 0,60 $\mu\text{L mL}^{-1}$ não apresentou diferença estatística com o tratamento padrão em 24 HAP e 24 HAI e que em 24 HDI as doses do óleo essencial apresentaram o mesmo efeito que a testemunha (Figura 3).

Figura 3. Atividade específica da enzima peroxidase (POD) em discos de folhas de beterraba, tratadas com as doses de 0,20; 0,40; 0,60; 0,80 $\mu\text{L mL}^{-1}$ do óleo essencial de guaçatonga (OEG) (*C. sylvestris*), testemunha (água) e o padrão com Amistar® (0,016g 100L⁻¹). Coletas realizadas 24 horas antes da pulverização dos tratamentos (24 HAP) (A), 24 horas antes da inoculação de *C. beticola* (24 HAI) (B) e 24 horas depois da inoculação (24 HDI) (C) (Guarapuava, 2020).



Médias seguidas da mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

O OEG apresenta como componente majoritário o γ -muroloeno que pode atuar como elicitador ativando mecanismos de defesa das plantas, como ativando a atividade de POD. Esse processo é possível devido a alterações do potencial da membrana plasmática das células vegetais, que ocasiona a alcalinização extracelular, devido a entrada de H_+ e Ca_{2+} e saída de K_+ e Cl_- . Dessa forma tem-se a formação das espécies reativas ao oxigênio (EROs), como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que pode ser oxidado pela POD (Dixon et al., 1994; Liebthal et al., 2018).

Como resultado dessa oxidação tem-se a formação de radicais de monolignol que, espontaneamente, conseguem se parear e formar polímeros de ligninas para serem depositados na parede celular. Essa deposição permite o fortalecimento dessa estrutura e dificulta a invasão do patógeno e, possivelmente, a ação tóxica da cercosporina à membrana plasmática (Ebrahim et al., 2011). Segundo Garcia (2018) o OEG a 0,12 $\mu\text{L mL}^{-1}$ induziu em, aproximadamente, 38% a deposição de lignina em folhas de videira, fato que pode ter ocorrido na dose de 0,60 $\mu\text{L mL}^{-1}$ que induziu a atividade de POD, provavelmente ativando os mecanismos de defesa e resultando na redução de 40,25% da AACPD da cercosporiose da beterrada.

Resultados obtidos por Andrade et al. (2013) verificaram que plantas de tomateiro infectadas por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, agente da pinta bacteriana, e tratadas por ácido jasmônico induziram a atividade da POD em 6 e 12 dias após a inoculação do patógeno, o que resultou em redução de 28% da doença nessas plantas. Ngadze et al. (2012) evidenciaram que o aumento da atividade dessa enzima verifica a resistência de batatas à podridão mole causada por *Pectobacterium atrosepticum*, *P. carotovorum* subsp. *brasilensis* e *Dickeya* spp.

Dessa forma ressalta-se que o OEG não apresentou efeito direto sobre a *C. beticola*, porém ativou mecanismos de defesa nas plantas de beterraba, com a ativação da atividade de POD que resultaram na redução do desenvolvimento da cercosporiose nas folhas de beterraba. Destaca-se que o uso desse óleo essencial além de apresentar esses resultados promissores, pode ser utilizado como alternativa aos produtos químicos para a agricultura orgânica, permitindo a produção de beterrabas de forma sustentável ao meio ambiente (Raveau et al., 2020).

O óleo essencial de guaçatonga (*Casearia sylvestris*) não apresentou ação fungitóxica, sobre *C. beticola*, apenas sobre os patógenos *P. infestans* e *C. lindemuthianum* nos testes *in vitro*, mas, apresentou efeito direto sobre as plantas de beterraba no controle da cercospora, induzindo resistência na planta sobre o patógeno.

REFERÊNCIAS

- Andrade, C.C.; Resende, R.S.; Rodrigues, F.A.; Silveira, P.R.; Rios, J. A.;Oliveira, J.R.; Mariano, R. L. Indutores de resistência no controle da pinta bacteriana do tomateiro e na atividade de enzimas de defesa. *Tropical Plant Pathology*, **2013**, 38, 28- 34.
- Akthar, M. S.; Degaga, B.; Azam, T. Antimicrobial activity of essential oils extracted from medicinal plants against the pathogenic microorganisms: a review. *Journal Issues*, **2014**, 2350, 1588.
- Araújo, L.; Borsato, L. C.; Valdebenito-Sanhueza, R. M.; Stadnik, M. J.Fosfito de potássio e ulvana no controle da mancha foliar da gala em macieira. *Tropical Plant Pathology*, **2008**, 33, 148-152.
- Balbi-Peña, M.I., Becker, A., Stangarlin, J.R., Franzener, G., Lopes, M.C., Schawan-Estrada, K.R.F. Controle de alternaria solani em tomateiro por extratos de curcuma longa e curcumina – I. avaliação *in vitro*. *Fitopatologia Brasileira*, **2006**, 31, 310-314.
- Batista, V.V., Bressan, D.F., Oligini, K.F., Link, L., Olinghetto, D.J., Mazaro, S.M. Óleos essenciais no controle de *Rhizoctonia sp.* *In vitro*. In: CONGRESSO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **2017**, Dois Vizinhos. Anais... Dois Vizinhos: UTFPR-DV, 2017.
- Bolton, M. E Jonge, R., Ebert, M. K., Thomma, B. P. H. J. Ancient horizontal transfer of a toxin biosynthesis cluster reveals novel mechanisms in the cercosporin biosynthesis pathway. In: 29th Fungal Genetics Conference. *Genetics Society of America*, **2017**, 247-248.
- Bradford, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **1976**, 72, 248–254.
- Campbell, C. L.; Madden, L. V. (Ed.). Introduction to plant disease epidemiology. NY: Wiley, New York, 532p., **1990**.
- Daub, M. E.; Briggs, S. P. Changes in tobacco cell membrane composition and structure caused by cercosporin. *Plant Physiology*, **1983**, 71, 763-766.
- Dixon, R. A.; Harrison, M. J.; Lamb, C. J. Early events in the activation of plant defence responses. *Annual Review of Phytopathology*, **1994**, 32, 479–501.
- Ebrahim, S.; Usha, K.; Singh, B. Pathogenesis related (PR) proteins in plant defense mechanism. In: MÉNDEZ-VILAS, A. (Ed.) Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances. *Formatec*, **2011**, 1043–1054.
- Ferreira, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. *Ciência e Agrotecnologia*, **2011**, 35, 1039-1042.
- Garcia, C. Óleos essenciais no manejo de doenças em videira cv. Syrah e Rubi, Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO) (área de concentração: Produção Vegetal), **2018**.
- Garcia, C. Rodrigues, J.D.; Mazaro, S.M.; Botelho, R.V.; Faria, C.M.D.R. Óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea*: influência na qualidade pós-colheita de uvas 'Rubi'. *Brazilian Journal of Food Technology*, **2019**, 22.
- Kar, M.; Mishra, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during Rice leaf senescence. *Physiologia Plantarum*, **1976**, 57, 315-319.
- Liebthal, M.; Maynard, D.; Dietz, K. Peroxiredoxins and redox signaling in plants. *Antioxidants & redox signaling*, **2018**, 28, 609-624.
- Liñeiro, E.; Chiva, C.; Cantoral, J. M.; Sabidó, E.; Fernandez, A. F. J. Modifications of fungal membrane proteins profile under pathogenicity induction: A proteomic analysis of *Botrytis cinerea* membranome. *Proteomics*, **2016**, 16, 2363- 2376.
- May, M.L.; Oliveira, R.A.; Floriani, A.M.V.; Schuber, J.M. Proposta de escaladiagramática para quantificação da cercosporiose da beterraba. *Scientia Agraria*, **2008**, 9, 331-337.

- Ngadze, E.; Icishahayo, D.; Coutinho, T.A.; Van Der Waals, J. E. Role of polyphenol oxidase, peroxidase, phenylalanine ammonia lyase, chlorogenic acid, and total soluble phenols in resistance of potatoes to soft rot. *Plant disease*, **2012**, 96, 186-192.
- RAVEAU, R.; FONTAINE, J.; LOUNÈS-HADJ, S. A. Essential Oils as Potential Alternative Biocontrol Products against Plant Pathogens and Weeds: a Review. *Foods*, **2020**, 9, 365.
- Rezende, J.S.; Zivanovic, M.; de Novaes, M.I.C.; Chen, Z.Y. The AVR4 effector is involved in cercosporin biosynthesis and likely affects the virulence of *Cercospora cf. flagellaris* on soybean. *Molecular plant pathology*, **2020**, 21-53.
- Russiano, M. C. S., Bressanelli, M., Nava, G. A., & dos Santos Russiano, C. G. Óleos essenciais de citronela, melaleuca e guaçatonga no controle de *Penicillium expansum*/Citronella, melaleuca and guaçatonga essential oils in the control of *Penicillium expansum*. *Brazilian Journal of Development*, **2019**, 5, 21277-21283.
- Santana, V. S.; Moural, M. C. P.; Ferreira, F. Mortalidade por intoxicação ocupacional relacionada a agrotóxicos, 2000-2009, Brasil. *Revista Saúde Pública*, **2013**, 598-606.
- Schwan-Estrada, K. R. F.; Stangarlin, J. R. Extratos e óleos essenciais de plantas medicinais na indução de resistência. In: Cavalcanti, L. S.; Di Piero, R. M.; Cia, P.; Paschoati, S. F.; Resende, M. L. V.; Romeiro, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos. Piracicaba: Fealq, **2005**. 125-132.
- Shuping, D. S. S.; Eloff, J. N. The use of plants to protect plants and food against fungal pathogens: A review. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, **2017**, 14, 120-127.
- Soares, A.M. Dos S.; Machado, O.L.T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. *Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas*, **2007**, 1.
- Tomazoni, E. Z.; Ribeiro, R. T. S.; Schwambach, J. Potencial Fungitóxico Dos Óleos Essenciais de Schinus Molle L. e Schinus Terebinthifolius Raddi Contra Fungos Patogênicos Do Tomareiro. *Revista Brasileira de Agroecologia*, **2017**, 12.
- Urbanek, H.; Kuzniak-Gebarowska, E.; Herka H. Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polygalacturonase. *Acta Physiologia Plantarum*, **1991**, 13, 43- 50.
- Venturoso, L.D.R.; Bacchi, L.M.A.; Gavassoni, W.L.; Conus, L.A.; Pontim, B.C.A.; Bergamin, A.C. Atividade antifúngica de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fitopatógenos. *Summa Phytopathologica*, **2011**, 37, 18-23.