

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
COORDENAÇÃO DE AGRONOMIA
CÂMPUS DOIS VIZINHOS

KARINE FUSCHTER OLIGINI

**POTENCIAL DE ÓLEO DE CHIA (*Salvia hispanica*) NO CONTROLE
DO MOFO CINZENTO EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS E DE
Botrytis cinerea IN VITRO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

DOIS VIZINHOS

2016

KARINE FUSCHTER OLIGINI

**POTENCIAL DE ÓLEO DE CHIA (*Salvia hispanica*) NO CONTROLE
DO MOFO CINZENTO EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS E DE
Botrytis cinerea IN VITRO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso II, do Curso Superior de Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheira Agrônoma.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Miguel Mazaro

DOIS VIZINHOS

2016



TERMO DE APROVAÇÃO

POTENCIAL DE ÓLEO DE CHIA (*Salvia hispanica*) NO CONTROLE DO MOFO
CINZENTO EM PÓS-COLHEITA DE MORANGOS E DE *Botrytis cinerea* *IN VITRO*

por

KARINE FUSCHTER OLIGINI

Este Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) foi apresentado em dez de Junho de 2016 (dois mil e dezesseis) como requisito parcial para a obtenção do título de Engenheira Agrônoma. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

SÉRGIO MIGUEL MAZARO
UTFPR- Dois Vizinhos

MILENE OLIVEIRA P. BICUDO
UTFPR- Dois Vizinhos

LILIAN DE SOUZA VISMARA
UTFPR- Dois Vizinhos

ANGÉLICA SIGNOR MENDES
Responsável pelos Trabalhos
de Conclusão de Curso

LAÉRCIO RICARDO SARTOR
UTFPR - Dois Vizinhos

Dedico este trabalho a Deus, á minha família e amigos, por terem me apoiado e acima de tudo acreditado em mim!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, que me agraciou com mais esta conquista, por diariamente me dar forças e sempre guiar e iluminar o meu caminho.

Agradeço a minha mãe, Salete Fuschter Oligini e a meu pai, Gilmar da Silva Oligini, que batalharam a vida inteira para me dar oportunidades e que nunca mediram esforços pra me ver bem, por sempre confiar e me incentivar por todo caminho que andei e por me amar incondicionalmente.

Agradeço aos meus demais familiares e amigos pelo apoio, em especial aos meus irmãos Luiza Fuschter Oligini, Izadora Fuschter Oligini e Eduardo Fuschter Oligini, pela confiança, amor e carinho que a mim dedicaram; a minha grande amiga Marcielly Bressanelli e sua família, por me acolherem como a uma filha e por sempre me apoiar e acreditar no meu potencial.

Aos meus amigos Andressa Marcon Gasperini, Bruna Valéria Gil, Ana Paula Ciliprandi, Alini Maria Hartmann, Paulo Henrique Maia Machado, Jean Tides e os demais de longa data que modificaram meu modo de ver a vida, e que me apoiam e me dedicam seu tempo, carinho e amizade, fica minha eterna gratidão.

Ao Professor Dr. Laercio Ricardo Sartor, pelos os anos dedicados a orientação e incentivo á pesquisa.

A instituição UTFPR - DV e seus professores, que me proporcionaram além de conhecimento técnico, apoio das mais diversas formas, fica minha mais sincera gratidão.

A meu amigo e orientador Professor Dr. Sérgio Miguel Mazaro pela confiança, amizade, ajuda, dedicação e compreensão.

“Em tempos em que quase ninguém se olha nos olhos, em que a maioria das pessoas pouco se interessa pelo que não lhe diz respeito, só mesmo agradecendo àqueles que percebem nossas descrenças, indecisões, suspeitas, tudo o que nos paralisa, e gastam um pouco da sua energia conosco, insistindo...”

Martha Medeiros

RESUMO

OLIGINI, Karine Fuschter. **Potencial de óleo de chia (*Salvia hispanica*) no controle do mofo cinzento em pós-colheita de morangos e de *Botrytis cinerea* *in vitro***. 2016. 39f Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2016.

Atualmente o Brasil é um dos maiores produtores de morango, porém a sua produção é fortemente limitada por problemas na sua cadeia produtiva e na pós-colheita devido ao mofo cinzento, o qual é causado por *Botrytis cinerea*, presente em todas as regiões produtoras do Brasil. Objetivou-se por meio deste trabalho, avaliar o potencial de óleo de chia (*Salvia hispanica*) no controle do mofo cinzento em pós-colheita de morangos e de *Botrytis cinerea* *in vitro*. Frutos de morango foram submetidos ao tratamento por microaspersão, em diferentes concentrações de óleo de chia (0,125; 0,25; 0,5 e 1%), e na testemunha foi utilizado água destilada. Após 24 horas, os frutos foram inoculados com uma suspensão de esporos de *B. cinerea* (5×10^{-4} esporos ml^{-1}). O delineamento foi inteiramente ao acaso (DIC) com 4 repetições de 20 frutos. Os frutos foram então armazenados em temperatura controlada de 10°C ($\pm 1^\circ$) e após 96 horas, ocorreu avaliação de perda de massa, coloração, firmeza de polpa, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (AT), incidência e severidade do mofo cinzento. Ainda foram retiradas amostras de frutos para determinação da atividade das proteínas relacionadas à patogenicidade (PRPs), sendo elas fenilalanina amônia-liase (FAL), quitinases e β -1,3-glucanase. No experimento *in vitro*, foram utilizadas placas de Petri® como unidade experimental, em quatro repetições, incorporando o óleo de chia ao meio BDA (Batata-Dextrose e Agar) nas mesmas concentrações do experimento em pós-colheita. No centro da placa, foi inserido um disco de 3mm de micélio de *B. cinerea*, e as placas mantidas em B.O.D por 96 horas, a 10°C $\pm 1^\circ$ C, onde avaliou-se o processo de crescimento micelial, sendo este delineado em DIC com parcelas subdivididas no tempo. Óleo de chia atuou na redução da incidência do mofo cinzento em pós-colheita de morangos cv. Caminho Real, ativando a enzima quitinase. Não demonstrou ação sobre a FAL, e sobre a β -1,3 glucanase, bem como não alterou as características físico-químicas dos frutos. *In vitro*, não apresentou ação sobre o patógeno *B. cinerea*. Nesse sentido, conclui-se que o óleo de chia possui potencial de controle de mofo cinzento em morangos, e que tal ação está relacionada à ativação do processo de indução de resistência com a rota preferencial de ativação da enzima hidrolítica quitinase.

Palavras-chave: Resistência Sistêmica Adquirida; Controle alternativo; Óleos essenciais.

ABSTRACT

OLIGINI, Karine Fuschter. **Chia oil potential (*Salvia hispanica*) in the control of gray mold in post-harvest strawberries and *Botrytis cinerea* in vitro.** 39f 2016. Work Completion of course (Graduation in Agronomy) - Federal Technological University of Paraná. Two Neighbors, 2016.

Currently Brazil is one of the largest strawberry producer, but its production is severely limited by problems in its supply chain and post-harvest due to gray mold, which is caused by *Botrytis cinerea*, present in all producing regions of Brazil. The objective is through this work was to evaluate the potential of chia oil (*Salvia hispanica*) in the control of gray mold in post-harvest strawberries and *Botrytis cinerea* in vitro. Strawberry fruits have been subjected to treatment by micro, chia oil at different concentrations (0.125, 0.25, 0.5 and 1%), and the control using distilled water. After 24 hours, the fruits were inoculated with a suspension of *Botrytis cinerea* spores (5×10^{-4} spores ml⁻¹). The design was completely randomized (CRD) with 4 replications of 20 fruits. The fruits were stored in controlled temperature of 10 ° C (± 1) and after 96 hours, there was mass loss evaluation, color, firmness, soluble solids (TSS), titratable acidity (TA), incidence and severity of mold gray. Even fruits were withdrawn sample to determine the activity of proteins related to pathogenicity (PRPs) and they phenylalanine ammonia lyase (PAL), chitinases and β -1,3-glucanase. In vitro experiment, Petri® plates were used as experimental unit, in four replications, incorporating chia oil to PDA medium (Potato Dextrose Agar and) in the same experiment concentrations in postharvest. In the center of the card, a 3 mm disc mycelium of *B. cinerea* was inserted, and the plates kept in BOD for 96 hours at 10 ° C ± 1 ° C, which evaluated the mycelial growth process, which is outlined in DIC with plots subdivided in time. chia oil acted in reducing the incidence of gray mold in post-harvest strawberries cv. Real way, activating the enzyme chitinase. It showed no action on the FAL, and the β -1,3 glucanase. And did not alter the physicochemical characteristics of fruits. In vitro, showed no action on the *B.cinerea* pathogen. In this sense, it is concluded that the chia oil has potential gray mold control in strawberries, and that such action is related to activation of resistance induction process with the preferred route of activation of hydrolytic enzyme chitinase.

Keywords: Systemic Acquired Resistance; Alternative control; Essencial oils.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 JUSTIFICATIVA	11
1.2 OBJETIVOS	12
1.2.1 Objetivo geral	12
1.3.2 Objetivo específico	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 ASPECTOS GERAIS DO MORANGUEIRO.....	13
2.2 MOFO-CINZENTO (<i>Botrytis cinerea</i>)	14
2.3 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA	15
2.4 RESISTENCIA SISTÊMICA ADQUIRIDA–RSA	16
2.5 ÓLEO ESSENCIAL DE CHIA (<i>SALVIA HISPANICA</i>).....	17
2.6 ACIBENZOLAR-S-METILICO - (ASM)	18
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO.....	20
3.2 OBTENÇÃO DOS ISOLADOS DE <i>B. CINEREA</i>	20
3.3 EXPERIMENTO I – INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A MOFO CINZENTO:.....	20
3.3.1 Análises físico-químicas	21
3.3.2 Análises bioquímicas.....	22
3.4 EXPERIMENTO II- EFEITO DO OLEO DE CHIA SOBRE <i>B. CINEREA IN VITRO</i>	23
3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO EXPERIMENTO	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5 CONCLUSÃO	32
6 REFERÊNCIAS	33

1 INTRODUÇÃO

O morangueiro (*Fragaria x ananassa Duch*) é atualmente a cultura mais representativa entre as pequenas frutas, sendo apreciado e cultivado em inúmeros países devido a sua alta adaptabilidade, principalmente em regiões de clima temperado onde consegue atingir seu máximo potencial produtivo, no entanto, sua produção se torna limitada a atender o mercado nacional, onde se exporta apenas 1% do total da produção, mostrando assim um imenso potencial de crescimento em nível de exportação (FACHINELLO et al; 2011).

Um dos fatores limitantes da sua produção é a sua fragilidade fitossanitária e alta perecibilidade na pós-colheita, levando a cultura ao grupo das quatro hortaliças mais contaminadas por agrotóxicos (ANVISA, 2010). Essa situação é justificada pelo fato de ocorrer uma alta incidência de doenças durante todo o ciclo da cultura, sendo as podridões de Rhizopus, causada por *Rhizopus stolonifer* (Ehrenberg: Fries) e o mofo cinzento, causado por *Botrytis cinerea* (Pers.: Fr.) as de maior destaque em pós-colheita (EMBRAPA, 2008).

Botrytis cinerea é um fungo pertencente ao filo dos ascomicetos, assim sendo um fungo facultativo, com atividade saprofítica na matéria orgânica, onde forma esclerócio e micélio que ficam dormentes na ausência do hospedeiro, o que o torna um patógeno de difícil controle (MORANDI; MAFFIA, 2005). O mesmo ainda causa diversas contaminações no hospedeiro, desde a planta aos frutos maduros, onde o morango, por exemplo, fica coberto por uma massa de micélios de coloração acinzentada as quais são as estruturas fúngicas, demonstrando seu alto potencial para desenvolver epidemias rápidas e severas (KIMATI et al. 2005).

Na busca de estratégias para mitigar o ataque deste patógeno, a cultura tem migrado para diferentes sistemas de produção, como produção orgânica, cultivo sem solo e utilização de indutores de resistência, visando assim à redução no uso de agroquímicos (FURLANI; FERNANDES, 2004; RADIN et al., 2011).

Entre essas estratégias de manejo a utilização de óleos essenciais vem mostrando um grande potencial de proteção, fato justificado pelo seu poder na ativação de mecanismos de defesa das plantas, as quais ativam suas defesas metabólicas naturais, que podem vir a estimular a síntese de lignina, fitoalexinas, acúmulo de proteínas relacionadas à patogênese, entre outras capazes de atuar no controle de fitopatógenos, onde esta ativação dos mecanismos envolve algumas

enzimas específicas, como peroxidase, β -1,3-glucanase, quitinase, fenilalanina amônia-liase (CAVALCANTI et al. 2005). Além do óleo essencial, a utilização de outros produtos de origem abióticos e bióticos também pode ser considerada (RODRIGUES; NETO; COELHO, 2006; TAVARES; LUZ, 2009; STANGARLIN et al. 2010).

Quando se busca um óleo essencial com potenciais para fitopatógenos, avalia-se a planta como um todo, sendo assim, a Chia (*Salvia hispanica*) apresenta uma rica fonte de antioxidantes naturais e ácidos graxos essenciais, e altos teores de cálcio, potássio, aminoácidos essenciais, fibras e ômega 3, além de possuir compostos envolvidos como a estrutura de terpenos, sesquiterpenos, álcoois, fenilpropanoides, entre outros, demonstrando seu possível potencial em relação aos patógenos (IXTAINA et al; 2008).

Atualmente no Brasil, se tem registro de apenas um produto indicado como indutor de resistência, chamado de Bion® Syngenta, o qual possui como ingrediente ativo o Acibenzolar-S-Metilico (ASM), que atua na ativação de rotas metabólicas relacionadas à defesa vegetal, com ênfase na ativação das enzimas relacionadas à patogenicidade (MAPA, 2016). Este produto é o único que permite um estudo comparativo com novos produtos, sendo a maior referencia até o momento, uma vez que o mercado é extremamente carente de indutores.

1.1. JUSTIFICATIVA

Devido à elevada preocupação da população em receber em suas mesas alimentos isentos de agrotóxicos, principalmente no que diz respeito à pós-colheita de frutos, muitos estudos estão sendo realizados na procura de desenvolver sistemas e métodos alternativos para o controle de patógenos que acometem as principais culturas de interesse agrônômico.

Estes métodos devem se apresentar menos impactantes tanto para o ambiente como para a saúde do homem. Sendo assim, a indução de resistência é uma peça chave no controle alternativo destes patógenos, no entanto sua utilização ainda precisa ser mais estudada e aprofundada.

Dentro de estudos com indução, temos o óleo essencial de Chia, o qual possui potencial considerando sua diversidade de metabólitos secundários, bem

como não apresentar até o momento relatos do seu emprego para o controle de fitopatógenos, o que justifica essa pesquisa.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o potencial do óleo de Chia no controle do mofo- cinzento do morangueiro e de *Botrytis cinerea in vitro*.

1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar a influência do óleo de Chia no prolongamento do pós-colheita dos frutos;
- ✓ Avaliar o potencial dos indutores sobre o controle do mofo-cinzento em pós-colheita de morangueiro;
- ✓ Avaliar o potencial do óleo de Chia no controle de *Botrytis cinerea in vitro*;
- ✓ Avaliar o potencial do óleo na ativação de enzimas relacionadas à patogenicidade na ativação da resistência sistêmica adquirida.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ASPECTOS GERAIS DO MORANGUEIRO

Originário do Chile e da América do Norte, o morangueiro é uma planta herbácea, rasteira e perene da família Rosácea, do gênero *Fragaria*; sua propagação ocorre anualmente por meio de estolhos oriundos da planta matriz. Conta atualmente com cerca de 18 espécies e quatro híbridos, destes os mais cultivados nos últimos anos são o *Fragaria x ananassa Duch*, *F. chiloensis* e *F. virginiana* (SILVA et al. 2007).

Os Estados Unidos é o maior produtor em nível mundial com uma produção de cerca de 900 mil toneladas, seguido pela Espanha com 350 mil toneladas, Japão (180 mil ton), Polônia (150 mil ton), México (141 mil ton) e Itália com 102 mil toneladas de frutas frescas (AGRIANUAL, 2008).

Para o Brasil o cultivo em nível comercial esta em expansão, porém o morango é uma das frutas mais representativas entre as pequenas frutas devido aos altos teores de vitamina C, A, E, B5 e B6, além de ser rico em flavonóides (IBGE, 2011).

Atualmente a produção anual brasileira de morangos estima-se em 100 mil toneladas, com uma área ocupada de 3.500ha, onde as maiores produções se concentram nas regiões sul e sudeste, onde os estados de São Paulo, Minas Gerais e Rio Grande do Sul são os maiores produtores, sendo que o Rio Grande do Sul recebeu grandes incentivos iniciais, entretanto o grande impulso da produção foi nos anos 60 em São Paulo, e nos dias atuais o estado de Minas Gerais com 41,4% é o maior produtor nacional (FACHINELLO et al. 2011). No Paraná as maiores produções concentram-se na região metropolitana de Curitiba (DERAL, 2013).

O morango é considerado um pseudofruto, ou falso fruto, pelo fato de suas estruturas se originarem de uma única flor com vários ovários, onde cada ovário origina um pequeno fruto, que são aqueles conhecidos pontinhos pretos no morango, o qual é na verdade um fruto agregado. A parte comestível suculenta que chamamos de fruta tem origem no receptáculo da flor, sendo a parte, mais saborosa e apreciada da cultura, tanto *in natura* como processado, sendo rica em nutrientes, possuindo em sua composição vitaminas B1, B2, B5 e C, além de potássio, sódio,

cálcio, ferro e fósforo, sua composição é basicamente composta por 92,8% de água e 2,3% fibras, com um valor calórico em torno de 39 calorias em 100g de morango (LUENGO et al. 2000).

2.2 MOFO-CINZENTO (*Botrytis cinerea*)

O Mofo-cinzento é uma das principais doenças que acometem os frutos do morangueiro principalmente no pós-colheita, seu agente causal é o *Botrytis cinerea*, o qual possui ocorrência generalizada em todo o mundo, infestando flores, folhas e frutos em mais de 200 espécies de plantas (HELBIG, 2001).

Botrytis cinerea é um fungo facultativo, com atividade saprofítica na matéria orgânica, onde forma esclerócio e micélio que ficam dormentes na ausência do hospedeiro. Essa dormência do patógeno no hospedeiro causa uma contaminação dos botões florais e dos frutos verdes, onde o principal sintoma é o surgimento de manchas marrons claras que acabam secando o fruto ou abortando as flores, no caso dos frutos maduros essas manchas chegam a um ponto onde o morango fica com aspecto duro coberto por uma massa de micélios de coloração acinzentada que são as estruturas fúngicas (KIMATI et al. 2005).

Os conídios do *B. cinerea* quando em condições favoráveis, com temperatura de 20 a 25 °C e umidade relativa em torno de 90 a 100% germinam e são rapidamente disseminados pelo vento e água, onde após a penetração o patógeno infesta rapidamente os tecidos, esporulando e originando novos ciclos da doença e assim aumentando sua área de infecção (TANAKA, 2002).

A ocorrência da doença fica favorecida quando não é realizado o devido manejo fitossanitário, ficando assim, folhas velhas e doentes no local do cultivo. A utilização de espaçamentos menores e a alta adubação nitrogenada também são fatores determinantes para a infestação do mofo-cinzento (COSTA et al. 2003).

2.3 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA

Desde o início do século XIX, sabe-se que plantas podem responder ao ataque de patógenos por meio da ativação de mecanismos de defesa, sendo estas proteções contra patógenos, ocorrendo assim à atuação de barreiras naturais pré-formadas e pós-formadas (TAIZ; ZEIGER, 2004). Os fatores pré-formados estão presentes no metabolismo da planta antes da contaminação pelo patógeno. No caso dos fatores pós-formados, estes serão produzidos apenas com a presença do patógeno, e por meio de reações desencadeia uma defesa vegetal. Estes fatores apresentados podem ser subdivididos em estruturais ou bioquímicos, onde os estruturais vão apresentar barreiras físicas, atrasando a penetração do patógeno, já os bioquímicos serão os inibidores de crescimento, atuando na produção de substâncias tóxicas que serão repelentes ao patógeno (PASCHOLATI; LEITE, 1994; MAZARO, 2007).

Sendo a planta altamente responsiva a identificação de uma infecção através dos mecanismos de ação, a indução a resistência é ativada por indutores bióticos ou abióticos (BAYSAL et al, 2003; BONALDO et al, 2005; RYALS et al. 1996). Onde o agente indutor sensibiliza a planta a ponto de a mesma ativar seus mecanismos de defesa. Esta ativação dos mecanismos envolvem algumas enzimas específicas, como peroxidase, β -1,3-glucanase, quitinase, fenilalanina amônia-liase e polifenoloxidase (CAVALCANTI et al. 2005).

Um dos indicativos utilizados para verificar se ocorreu à ativação dos mecanismos de defesa é o teor de proteínas solúveis presente no tecido vegetal, o qual pode ter sido ativado pela ação direta do patógeno ou pela aplicação de algum elicitor biótico ou abiótico. Este fenômeno promovido pelos elicitores é conhecido como resistência sistêmica adquirida (RSA), porém os mesmos ainda podem desencadear a resistência local adquirida (RLA), e a resistência sistêmica induzida (RSI) (TERRY; JOYCE, 2004).

Com a descoberta da resistência sistêmica adquirida (RSA), vários estudos ganharam destaque e atenção, uma vez que se faz de extrema importância conhecimentos no controle de fitopatógenos através de análises bioquímicas de matérias vegetais, comprovando assim a presença de enzimas fundamentais para ativação das barreiras protetoras das plantas (STANGARLIN; PASCHOLATI, 2008).

2.4 RESISTENCIA SISTÊMICA ADQUIRIDA–RSA

A crescente possibilidade da utilização de indução a resistência como método de controle de fitopatógenos em plantas, tem motivado muitos pesquisadores. Atualmente, sabe-se que um mecanismo de defesa natural se manifesta devido ao acúmulo de alguns princípios antibióticos como as fitoalexinas, que ao se acumular nos tecidos vegetais quando detectado a presença de substâncias liberadas pelos patógenos, criam uma espécie de proteção (Figura 1). Este fenômeno da resistência Sistêmica Adquirida, nada mais é do que um estado de resistência, induzida pela infecção localizada causada por algum fitopatógeno ou pela presença de algum elicitor biótico ou abiótico (DURRAN; DONG, 2004).

Este fenômeno foi inicialmente observado em trabalhos com pepino e tabaco, os quais mostraram que a estabilização da RSA depende da planta e do tipo de organismo indutor (STICHER et al. 1997). Onde as plantas podem ficar sistemicamente protegidas através de uma inoculação prévia com patógenos ou devido à dosagem aplicada do elicitor e em condições ambientais favoráveis esta RSA ao se estabilizar pode durar semanas (GUZZO, 2004, p. 10).

Em nível molecular a RSA é definida pelo expressivo número de genes envolvidos na patogenicidade, estes por sua vez, são ativados pela interação patogênica com a planta, promovendo a compatibilidade ou incompatibilidade, esta última seria a resistência propriamente dita, onde irá acontecer a liberação de inúmeros sinais moleculares, resultantes da ativação de genes de defesa pelos processos de percepção, tradução do sinal e transdução (BOSTOCK, 2005).

Alguns dos mecanismos envolvidos na indução da resistência adquirida é a resposta de hipersensibilidade; Aumento na atividade da peroxidase; Acúmulo de fitoalexinas atuando na resistência local; Síntese de enzimas hidrolíticas, responsáveis pela degradação da parede celular de fungos; Síntese de proteínas RP e o aumento no conteúdo de ácido salicílico. Porém, essa RSA pode não estar relacionada diretamente a hipersensibilidade (RH), mesmo esta sendo uma das mais relevantes para a defesa vegetal (IRITI; FAORO, 2003; HEIL; BOSTOCK, 2002).

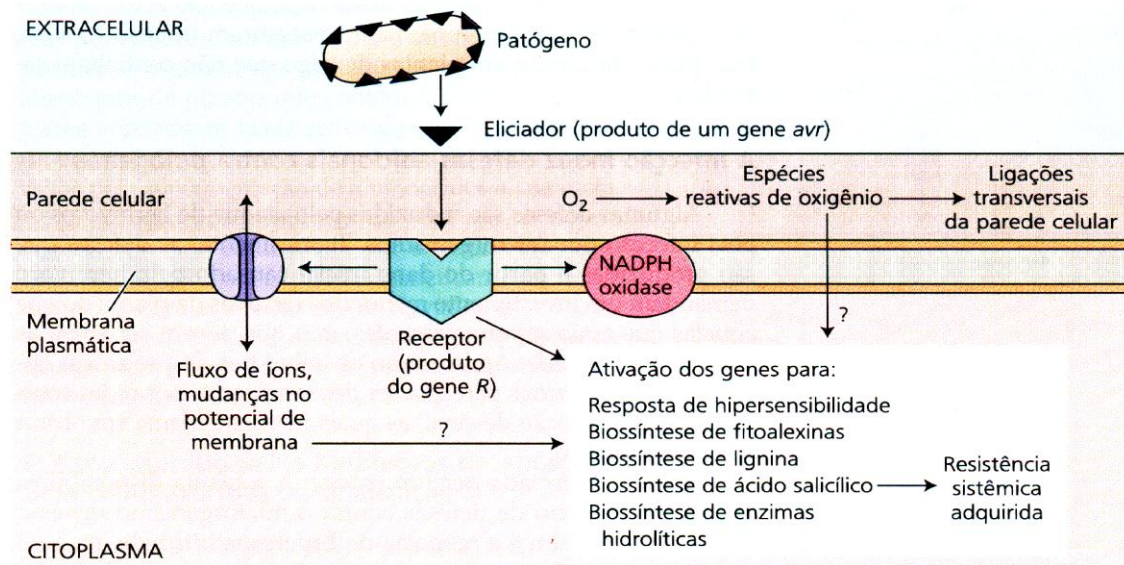


FIGURA 1 Muitas rotas de defesa contra patógenos são induzidas pela infecção. Os fragmentos de moléculas dos patógenos, denominadas eliciadores, iniciam uma complexa via de sinalização, que leva à ativação das respostas de defesa. Alguns eliciadores protéicos bacterianos são injetados diretamente na célula, onde interagem com os produtos do gene *R*.

2.5 ÓLEO ESSENCIAL DE CHIA (*Salvia hispanica*)

Com o advento da conscientização sobre a utilização equilibrada de produtos químicos no ambiente rural e urbano, se fez necessário novas tecnologias e estudos para desenvolver novas formas de controlar pragas e doenças das plantas. Sendo assim a utilização de óleo essencial de plantas, pode vir a ser uma das principais formas alternativas de controle dessas malesas que acometem as diversas culturas, principalmente no controle de fitopatógenos (THORMAR, 2012, p.168).

Estes óleos essenciais são formados nos metabolismos secundários das plantas, os quais são responsáveis por estratégias de sobrevivência da mesma, por meios bioquímicos e físicos como sua característica aromática, para que isso ocorra, grandes compostos estão envolvidos como a estrutura de terpenos, sesquiterpenos, álcoois, fenilpropanoides, entre outros (WOLFFENBUTTEL, 2007).

A *Salvia hispanica* L. é originária do centro-oeste do México até o norte da Guatemala, sendo uma planta anual pertencente à família das Lamiáceas. Foi por muitos anos um dos principais alimentos para as civilizações da América Central, seguida pelo milho e feijão (AYERZA; COATES, 2004).

Sua preferencia é por solos arenosos, porem se desenvolve muito bem em solos argilosos que sejam bem drenados e não alagados, entretanto tolera muito bem a seca e a acidez, não sendo adaptada a geadas e grandes quedas de temperatura (COATES, 2011). Seu cultivo requer áreas a pleno sol e temperaturas amenas, assim seu potencial de desenvolvimento no Brasil e em diferentes regiões é muito grande, devido á alta adaptabilidade da cultura (JIMÉNEZ, 2010).

Esta planta possui um porte de aproximadamente 1 metro de altura, com folhas simples, opostas, de 4 a 8 cm de comprimento e 3 a 5 cm de largura, com as epidermes das folhas apresentando tricomas glandulares. O óleo essencial se encontra nas folhas onde este atua como um repelente aos insetos, reduzindo assim a utilização de inseticidas (POZO, 2010).

A semente da Chia é uma rica fonte de antioxidantes naturais e ácidos graxos essenciais, além de obter altos teores de cálcio, potássio, aminoácidos essenciais, fibras e ômega 3. Onde encontra-se em sua composição química, cerca de 15 a 25% de proteínas, 30 a 33% de lipídeos , 18 a 30% de fibras , 26 a 41% de carboidratos, 5% de cinzas e de 90 a 93% de minerais, vitaminas e matéria seca. Seus componentes antioxidantes são beta-caroteno, tocoferol, ácido clorogénico, ácido caféico e flavonóides (quercetina, miricetina e kaempferol) (IXTAINA et al., 2008). Esta semente também não apresenta glúten, se tornando assim, um destaque na nutrição da alimentação humana (BUENO et al., 2010).

Atualmente realizaram-se apenas estudos com a *Salvia hispanica* para fins medicinais e nutricionais, porém seu potencial de metabólitos secundários é muito grande quando se refere a patógenos, uma vez que sua ação inseticida se apresenta muito bem desenvolvida, sendo assim este estudo irá avaliar seu potencial contra fitopatógenos, aumentando assim sua importância agrônômica.

2.6 ACIBENZOLAR-S-METILICO - (ASM)

Desenvolvido pela empresa Syngenta Proteção de Cultivos Ltda, São Paulo-SP, o acibenzolar-S-metil (ASM) é um composto sintético conhecido comercialmente por BION 500 WG, este por sua vez é considerado o primeiro produto registrado no Brasil que ativa o mecanismo de resistência de plantas a

doenças, sendo um produto abiótico de baixa toxicidade, fato este que permite sua ampla aplicação, tanto via solo ou foliar. Atualmente é registrado para as culturas de batata, cacau (mudas), citros (mudas), feijão, melão, tomate e algodão (MAPA, 2016).

O acibenzolar-S-methyl é derivado do benzotiodiazole e atua diretamente aumentando a atividade de enzimas envolvidas na resistência das plantas, onde ativa genes da RSA e das PRPs, os quais são mediados pelo Ácido Salicílico, pelo fato de suas atuações serem semelhantes, assim aumentando a gama de estudos relacionados ao ASM (OOSTENDORP et al., 2001; CIA et al., 2007).

Esta indução proporcionada pelo ASM, já foi comprovada por diversas pesquisas com culturas de tabaco, tomate, pepino, trigo e *Arabidopsis thaliana* (MAZARO, 2007, P. 11-17). Ainda ha trabalhos que demostram um considerável aumento da eficácia de fungicidas quando incluído o ASM em programas fitossanitários para soja (DALLAGNOL et al; 2006; SANTOS et al; 2011).

A recomendação de aplicação deste produto é preventiva, sendo aplicado na parte área das plantas antes da entrada do patógeno, pois este é ligeiramente absorvido pelos tecidos vegetais e logo translocado sistemicamente para a planta em geral, desde as raízes até as folhas, ativando assim, todas as suas defesas naturais. Trabalhos realizados por GUZZO, 2004, p.91, comprovam este efeito, uma vez que o ASM, mostrou não possuir nenhuma ação antimicrobiana direta aos patógenos, porém se mostrou eficiente como indutor de expressões genéticas de resistência, os quais se manifestam sobre a infecção e desenvolvimento dos patógenos por meio de compostos.

Devido a estes efeitos como eleitor de mecanismos de resistência já comprovados e assim afirmado a sua eficiência, o ASM vem sendo utilizado mundialmente como produto padrão comparativo em trabalhos de pesquisas relacionadas com Indução de Resistência. Por este fato, o mesmo será utilizado no presente trabalho como um dos tratamentos comparativos, para assim ser possível através de análises bioquímicas analisar o efeito de ativação da resistência ou não do mofo cinzento em morangueiro, assim como a RSA, comparando com os demais tratamentos com óleo de Chia.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE EXECUÇÃO

O experimento foi conduzido no Laboratório de Fitossanidade e Bioquímica, localizado na Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR, Campus de Dois Vizinhos, Paraná.

O óleo essencial de chia (*Salvia hispanica*) foi obtido da empresa CaCaLia Produtos Naturais[®], sendo produzido por prensagem a frio tendo 100% de pureza. O óleo foi armazenado sob refrigeração em vidro âmbar até o momento da implantação do experimento.

3.2 OBTENÇÃO DOS ISOLADOS DE *B. cinerea*

O isolado patogênico foi obtido a partir de morangos infectados com *B. cinerea*, coletados em área de cultivo comercial do município de Dois Vizinhos (PR). Para o isolamento, estruturas fúngicas presentes nos pseudofrutos coletados foram retiradas da lesão com auxílio de uma alça de platina estéril, transferidas para placas de Petri[®] contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) e incubadas em câmara de crescimento a 25°C ± 1°C, por sete dias no escuro. A descontaminação do fungo *Botrytis cinerea* foi realizada através de sucessivas repicagens até a obtenção de cultura pura.

O experimento ocorreu em duas etapas, sendo que o Experimento I avaliou diferentes concentrações de óleo de Chia na indução de resistência ao mofo cinzento em pós-colheita de morangos cv. Caminho Real. Já o experimento II, buscou complementar o efeito do óleo de Chia sobre o patógeno, avaliando o controle de *Botrytis cinerea* em condições *in vitro*.

3.3 EXPERIMENTO I – INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A MOFO CINZENTO

A colheita dos frutos de morango da cultivar Caminho Real, ocorreu quando os mesmos apresentaram estágio de maturação de consumo comercial (coloração

>90%vermelha; SST valor médio 13°Brix; acidez titulável valor médio 11,0 meq./100ml, determinados no início do experimento). Em seguida estes frutos passaram por uma seleção, quanto ao tamanho, grau de maturação e ausência de injúrias. Cada unidade experimental foi constituída de uma bandeja de polipropileno com dimensões de 20 cm de comprimento por 10 cm de largura, contendo 20 frutos.

As concentrações do óleo foram ajustadas em água destilada (0,125; 0,25; 0,5 e 1 %), utilizando como produto diluente o Tween 20. Para a testemunha foi utilizado somente água destilada. O delineamento experimental utilizado, foi o inteiramente ao acaso (DIC) com quatro repetições.

Estes tratamentos descritos foram aplicados com um borrifador manual (micro-aspersão), em uma dosagem de 10ml/20 frutos. Após, as bandejas foram revestidas com PVC esticável (15micras) e armazenadas em B.O.D a 10°C ± 1°C.

Após 24 horas da aplicação dos tratamentos, ocorreu a inoculação do *B. cinerea* ($5 \cdot 10^{-4}$ conídios mL⁻¹), na quantidade aproximada de 0,01ml por morango. A inoculação consistiu na pulverização da suspensão de conídios na concentração de ($5 \cdot 10^{-4}$ conídios mL⁻¹), sobre os frutos. O inóculo foi preparado a partir de isolados de culturas puras de *Botrytis cinerea* em placas de petri, onde nessas placas foram adicionados 10 mL de água destilada e então procedeu-se a raspagem da superfície das colônias com uma lâmina de microscopia esterilizada. Em seguida, a suspensão de inóculo obtida foi filtrada, determinando-se a concentração de esporos com a câmara de Neubauer.

No término do experimento, com 96 horas, foram feitas análises físico-químicas e bioquímicas. As variáveis físico-químicas analisadas foram: incidência, diâmetro da lesão e esporulação das podridões, firmeza de polpa, sólidos solúveis totais (SST), acidez titulável (AT), perda de massa e coloração. As análises bioquímicas determinaram a atividade das proteínas relacionadas à patogenicidade (PRPs), sendo elas: fenilalanina amônia-liase (FAL), quitinase e β -1,3-glucanase

3.3.1 Análises Físico-químicas

A avaliação da incidência de podridões foi realizada pela análise visual e expressa em percentual de frutas, sendo consideradas frutas podres aquelas que apresentavam sintomas típicos (micélio aparente) de ataque de patógenos, sendo os

patógenos identificados com o uso de lupas de mesa. O tamanho da lesão foi avaliado utilizando um paquímetro digital, medindo o maior diâmetro de cada lesão. Para avaliar a firmeza da polpa foi utilizado um penetrômetro TR, modelo RT –327, com ponteira de 8 mm de diâmetro. Os resultados foram expressos em libras/cm² e transformados para Newton (N). Os sólidos solúveis foram determinados a partir de um refratômetro manual e expressos em °Brix. A acidez titulável foi determinada em uma amostra de 10mL de suco dos frutos diluída para 90mL de água destilada e titulada com uma solução de hidróxido de sódio 0,1N até pH 8,1, sendo os resultados expressos em meq.100 mL⁻¹. A perda de massa foi obtida a partir da diferença de massa das amostras ao início e término do experimento. A coloração foi determinada com o auxílio de um colorímetro digital.

3.3.2 Análises bioquímicas

Para as análises bioquímicas foram retiradas amostras padronizadas de tecido vegetal, da porção mediana dos frutos, sendo 1g de cada fruto.

Nas análises de proteínas totais, as amostras foram maceradas em almofariz com 6 ml de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,5). Em seguida, o material foi levado a centrifuga (14.000g / 10 min a 4°C) e o sobrenadante coletado. Para quantificação do conteúdo total de proteínas das amostras utilizou-se o teste de Bradford (1976). A leitura de proteínas totais foi realizada em espectrofotômetro a 590 nm, utilizando soro albumina bovina como padrão.

A determinação da atividade da fenilalanina amônia-liase (FAL) foi por quantificação colorimétrica do ácido trans-cinâmico liberado do substrato fenilalanina, conforme metodologia descrita por Kuhn (2007), onde é indicado utilizar 0,25 g da amostra com mais 3,0 mL do tampão TRIS – HCl pH 8,0. Este extrato foi acondicionado em tubos ependorfe e centrifugado por 10 minutos, a 4°C a 6000 rpm. Após, uma alíquota de 200 µL foi transferida para tubo de ensaio, acrescentando-se mais 3,0 mL do tampão de extração. A solução foi agitada em vórtex, obtendo-se assim, o extrato enzimático. Deste extrato, 1,5 mL foi transferido para outro tubo de ensaio, com mais 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina. Novamente, agitou-se a solução em vórtex para homogeneização. E após, os tubos foram incubados em banho-maria por 45 minutos a 40°C. Depois de retirados do banho-maria, os tubos foram colocados em banho de gelo por 5 minutos para

interromper a reação e assim pode-se realizar a leitura em espectrofotômetro a 290 nm.

Para dosagem das atividades de quitinases e β -1,3-glucanase seguiu-se os procedimentos descritos por Wirth e Wolf (1992), com adequações, sendo que as amostras foram maceradas em 4,0 mL de tampão acetato 100 mM (pH 5,0), com posterior centrifugação (20.000 g por 25 min, a -4°C). O sobrenadante será coletado e utilizado para a avaliação da atividade das enzimas.

A atividade enzimática da quitinase foi avaliada através da liberação de oligômeros solúveis de “chitin-azure”, a partir de quitina carboximetilada marcada com remazol brilhante violeta 5R-RBV (Sigma Aldrich®). Para determinação espectrofotométrica das atividades de β -1,3-glucanase nos extratos foi utilizado como substrato curdlan-remazol azul brilhante (Sigma Aldrich® - $4\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$).

3.4 EXPERIMENTO II- EFEITO DO OLEO DE CHIA SOBRE *B. cinerea* IN VITRO

Para avaliar o efeito do óleo de Chia no controle de *B. cinerea in vitro* foram utilizados cinco tratamentos, nas mesmas concentrações do experimento *in vivo* (I), utilizando como testemunha somente o meio BDA (Batata Dextrose Ágar). Os tratamentos foram avaliados com quatro repetições, sendo a unidade experimental uma placa de Petri® de vidro com 9 cm de diâmetro.

Os meios de cultura BDA receberam a adição das diferentes concentrações do óleo de Chia filtrado em membrana millipore® de $0,45\ \mu\text{m}$. Em seguida, em câmara de fluxo laminar, os preparados foram vertidos na quantidade de 12 mL por placa de Petri®. Após a solidificação do meio, discos de 3 mm de diâmetro colonizados pelo fungo foram transferidos para o centro da placa contendo o meio de cultura. Então, estas foram tampadas, lacradas com filme plástico esticável e incubadas em câmara de crescimento à $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ com fotoperíodo de 12 horas.

A avaliação do experimento foi realizada com 24, 48 e 72 horas, com a utilização de medição, com auxílio de um paquímetro, perpendicularmente em dois diâmetros (A e B) pré-definidos antes do crescimento micelial do fungo. O experimento foi finalizado quando o fungo *B. cinerea* atingiu a borda de uma das placas.

3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA DO EXPERIMENTO

Para análise dos dados utilizou-se a ferramenta computacional R (TEAM, 2015) versão 3.1.2. Os dados foram submetidos à análise de variância, quando significativos, procedeu análise de regressão;

Ambos os experimento I e II foi delineado inteiramente ao acaso (DIC) e o experimento *in vitro* com *B. cinerea* foi delineado em DIC com parcelas subdivididas no tempo.

Foi ainda realizado o teste de Shapiro-Wilk, ao nível 5% de significância, para verificar a normalidade dos resíduos dos modelos utilizados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados referentes às análises de perda de massa, sólidos solúveis totais, acidez titulável, coloração e firmeza estão apresentados na Tabela 1. Não foi observado efeito de nenhum dos tratamentos sobre esses parâmetros físico-químicos.

Tabela 1: Perda de massa (%), teor de sólidos solúveis totais - SST (°Brix), acidez titulável, cor e firmeza de polpa, 96 horas após a aplicação de concentrações de óleo de Chia em pós-colheita de morangos, cv. 'Caminho Real'. Dois Vizinhos-PR, 2015.

Tratamento	Variáveis Físico-químicas				
	Perda de massa	SST	Acidez	Cor	Firmeza
	%	°Brix	meq/100 mL	L	N/cm ²
0	0,53ns	5,37ns	11,52ns	25,51ns	23,92ns
0,125	0,65	6,52	10,73	23,42	29,03
0,25	0,58	5,82	10,87	26,62	25,92
0,5	0,59	5,97	9,62	25,11	26,59
1	0,56	5,6	10,54	24,84	24,92
CV:	10,1	10,1	15,0	9,59	10,1

ns=não significativo ao nível de 5% de significância.

Fonte: Arquivo pessoal (2015).

A principal causa da perda de massa é a perda de água do fruto através da transpiração e da respiração, sendo que tratamentos pós-colheita podem interferir nesses processos, podendo causar demasiada perda de água e conseqüente aspecto de murchamento nos frutos. Como não ocorreram diferenças significativas na perda de massa, considera-se que este resultado seja em função da forma que ocorreu o tratamento, por aspersão e não por imersão, onde o produto não promoveu um efeito filmogênico e nem mesmo causou danos no tecido vegetal, o que poderia alterar o teor de perda de água do tecido.

Outras variáveis físico-químicas representativas em pós-colheita, são os sólidos solúveis totais (SST) e a acidez titulável (AT), onde a alteração desses parâmetros está diretamente relacionado à atividade metabólica na pós-colheita, haja visto que os SST e os ácidos são substratos no processo respiratório dos frutos. Os tratamentos, não interferiram nessas variáveis, demonstrando que a atividade metabólica ocorreu dentro da normalidade para a cultura. De maneira similar, a não interferência na coloração dos frutos pelos tratamentos, nos permite afirmar que não ocorreu danos na epiderme, bem como, não ativou rotas de defesa

vegetal, que propiciassem a alteração ou descaracterização da coloração normal dos frutos.

A firmeza de polpa também é um dos parâmetros primordiais relacionados com a velocidade de deterioração das estruturas dos frutos, parede celular e turgidez dos tecidos, pois durante o período de maturação ocorrem atividades de diversas enzimas, principalmente a poligalacturonase, a pectinase e a celulase, que fazem a degradação dos tecidos da parede celular. Os resultados obtidos nesse estudo revelaram que o óleo de Chia não interferiu na atividade de enzimas de desestruturação da parede, mantendo os frutos com a firmeza de polpa em níveis normais para a cultura. Resultado similar foi obtido por Tzortzakis (2007) quando avaliou o uso de óleos essenciais de eucalipto e canela em morangos, e concluiu que tais óleos não tiveram efeito sobre a firmeza dos frutos.

Quando avaliado a ocorrência de podridões nos frutos de morangos, obteve-se uma redução de podridões, com o uso dos tratamentos, sendo que na testemunha apresentou maiores incidências de podridões com 31%, assim como a dose estimada de 0,58% apresentaria menor incidência de podridões (Figura 2). Já para severidade, o tamanho médio das lesões foi de 1,2cm.

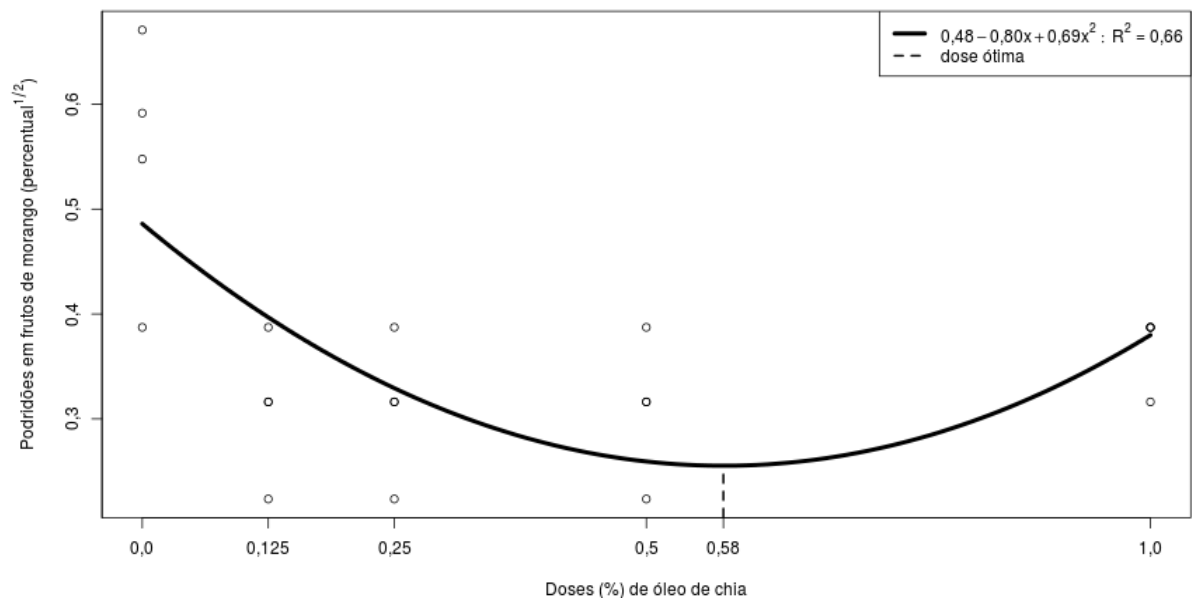


Figura 2: Incidência de podridões em frutos de morango 'Caminho Real', após aplicação de diferentes concentrações de óleo de Chia em pós-colheita, e armazenados a 10°C por 96 horas. Dois Vizinhos-PR, 2015.

Quando analisados os parâmetros bioquímicos, para buscar entender o efeito sobre a redução da podridão, observou-se que o óleo de chia ativou a enzima hidrolítica quitinase (Figura 3), com dose estimada para melhor eficiência técnica de 0,63%

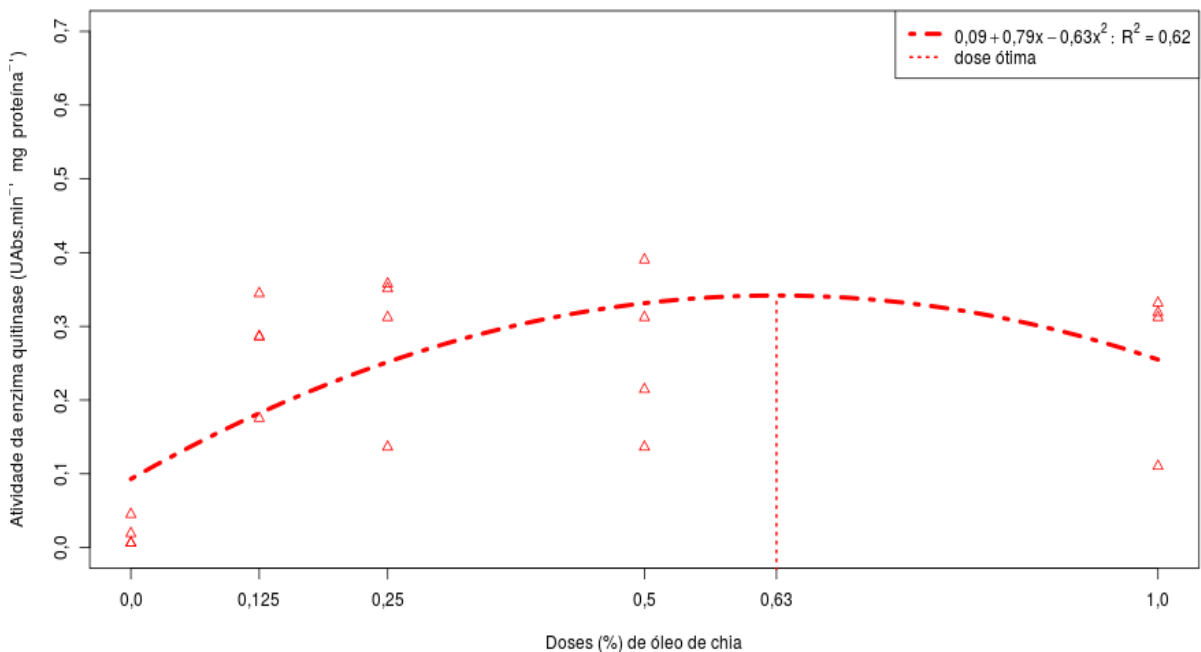


Figura 3: Atividade da Quitinase em frutos de morango 'Caminho Real', após aplicação de diferentes concentrações de óleo de Chia em pós-colheita, e armazenados a 10°C por 96 horas. Dois Vizinhos-PR, 2015.

Buscando a correlação entre a redução de podridões com a atividade da enzima quitinase, observou-se uma correlação altamente significativa, com menores percentuais de podridões e maior atividade da enzima quitinase. Verifica-se que á medida que a atividade da enzima quitinase aumenta a incidência de podridões diminui (Figura 4). Logo, afirma-se que houve indução de resistência para o controle de *B. cinerea in vivo*.

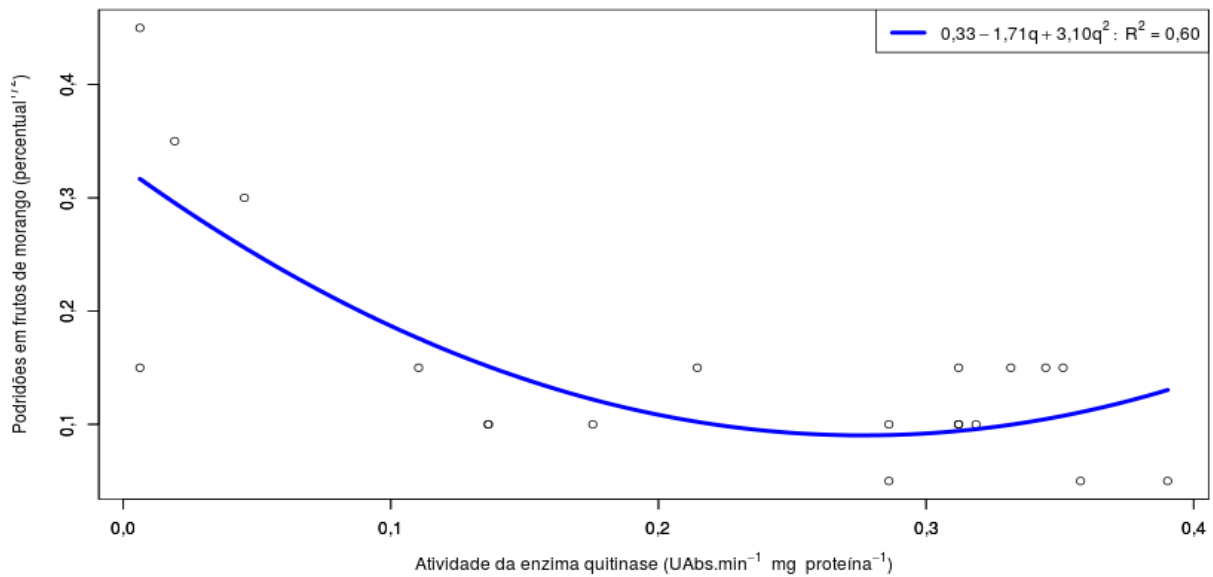


Figura 4: Correlação podridão x quitinase em frutos de morango 'Camino Real', após aplicação de diferentes concentrações de óleo de Chia em pós-colheita, e armazenados a 10°C por 96 horas. Dois Vizinhos-PR, 2015.

O intervalo de máxima eficiência técnica relacionado a podridões e quitinases esta entre as doses de 0,58 e 0,63% (Figura 5).

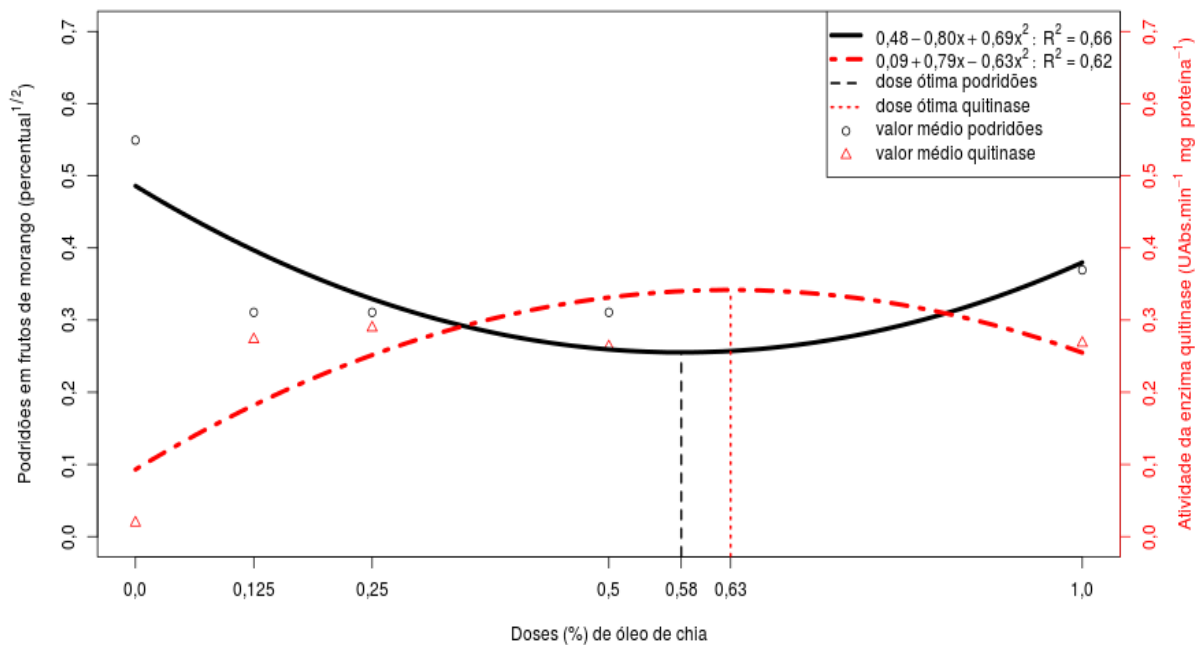


Figura 5: Máxima eficiência técnica relacionando podridões e quitinases em frutos de morango 'Caminho Real', após aplicação de diferentes concentrações de óleo de Chia em pós-colheita, e armazenados a 10°C por 96 horas. Dois Vizinhos- PR, 2015.

Os resultados desse estudo mostram que o óleo de chia possui ação na indução de resistência quando aplicado em pós-colheita de frutos de morango, sendo a rota preferencial de defesa a ativação da enzima quitinase, que é característica por atuar no processo de defesa vegetal, com ação hidrolítica sobre a parede celular dos fungos, ocasionando degradação e morte celular. *Botrytis cinerea* é um fungo pertencente ao filo dos ascomicetos, e sua estrutura celular é recoberta por β -glucanas, quitina e outros componentes. Segundo Mucha et al. (2006) após a remoção da camada de β -glucanas, quitinases estão aptas a hidrolisar a camada posterior que é composta de quitina, além disso, essa hidrólise pode ter sucesso com a cooperação de outras enzimas.

Os resultados demonstraram que os tratamentos não interferiram na atividade da enzima β -1,3 glucanases. Assim, não foi verificada uma associação entre as atividades das enzimas quitinase e β -1,3 glucanase como foi descrito por Carstens et al. (2003) que discutem sobre um sinergismo existente entre essas duas enzimas. A diferença na produção de quitinases e β -1,3-glucanases por isolados de *Botrytis cinerea* pode ter sido influenciada pelos níveis de quitina e β -1,3-glucanas presentes na parede celular, ou seja, pela proporção desses polissacarídeos presentes na parede celular do fungo. Além disso, o óleo de chia potencializou a expressão da quitinase, sendo que a expressão da β -1,3 glucanase não foi significativa.

Também não houve interferência na atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL). Essa enzima tem um papel importante na ativação de rotas de defesa vegetal, atuando no primeiro passo da síntese dos fenilpropanóides, com a conversão de fenilalanina em ácido-trans-cinâmico, para formação de compostos fenólicos (GERASIMOVA et al. 2005). Almeida et al. (2012) também não observaram diferenças nas atividades da enzima FAL em genótipos de soja inoculadas ou não com *Phakopsora pachyrhizi*. Cuzzi (2013), utilizando extrato de canola em pós-colheita de morangos para controle de *B. cinerea*, também não observou ativação significativa da FAL. De acordo com estes autores, a não ativação de enzimas relacionadas à resistência a patógenos pode ocorrer quando algumas poucas células infectadas são envolvidas por tecido saudável.

Mesmo não sendo encontrados relatos na literatura sobre a utilização de óleo de chia no controle de podridões em morango, nem mesmo na ativação da enzima quitinase, outros trabalhos já associam o uso de óleos essenciais na ativação de

defesa vegetal, a exemplo de trabalhos realizados por Cruz (2003), o qual avaliou óleos essenciais de *Allium sativum*, *Copaifera langsdorfii*, *Cinnamomum zeylanicum* e *Eugenia caryophyllata* no controle de antracnose em frutos de banana (*C. musae*), observando, que o maior percentual de controle da doença foi ocasionado pelo uso do óleo essenciais de *A. sativum*. O mesmo ainda verificou que óleos oriundos de espécies do gênero *Citrus* possuem potencial em tratamentos pós-colheita, para o controle de bolor verde em laranjas.

Salgado et al. (2003) trabalhando com os óleos essenciais de espécies de *Eucalyptus* na concentração de 500 mg kg⁻¹, observaram inibição significativa no desenvolvimento de *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* e *Bipolaris sorokiniana*.

Abreu (2006), observou efeito positivo tanto *in vivo* como *in vitro* de óleos essenciais de canela, capim-limão, cravo, eucalipto, melaleuca e menta para o controle de *Alternaria solani*, agente etiológico da pinta-preta do tomateiro.

Mazaro et al. (2008; 2012) e Cechim et al. (2014) demonstraram a ativação dessas enzimas de defesa vegetal, com a utilização de quitosana em frutos de morango no pós-colheita e de maçã.

Os efeitos de óleos essenciais, se aplicam além da pós-colheita, tendo como exemplo trabalhos realizados por Luckmann et al. (2007) avaliando extratos de Alecrim (*Rosmarinum officinalis* L.), onde o mesmo, observou ação deste óleo na indução de fitoalexinas gliceolinas em cotilédones de soja. Ainda Mazaro et al., (2008), verificaram a capacidade de óleos de *Eugenia uniflora* L. (pitangueira) na indução das fitoalexinas gliceolinas em cotilédones de soja, respondendo ao aumento das concentrações dos preparados. Assim, como Gouvea et al. (2011), constatou que os extratos de alho e de neem induziram a produção de fitoalexinas gliceolinas em soja.

Em relação aos dados obtidos no experimento *in vitro*, os resultados demonstraram que as diferentes concentrações de óleo de chia incorporado ao meio BDA, não inibiram o crescimento micelial de *B. cinerea*. Esses resultados indicam que o óleo de Chia não apresentou atividade fungistática e nem fungitóxica, assim, possibilitou o crescimento regular do fungo (Figura 6).

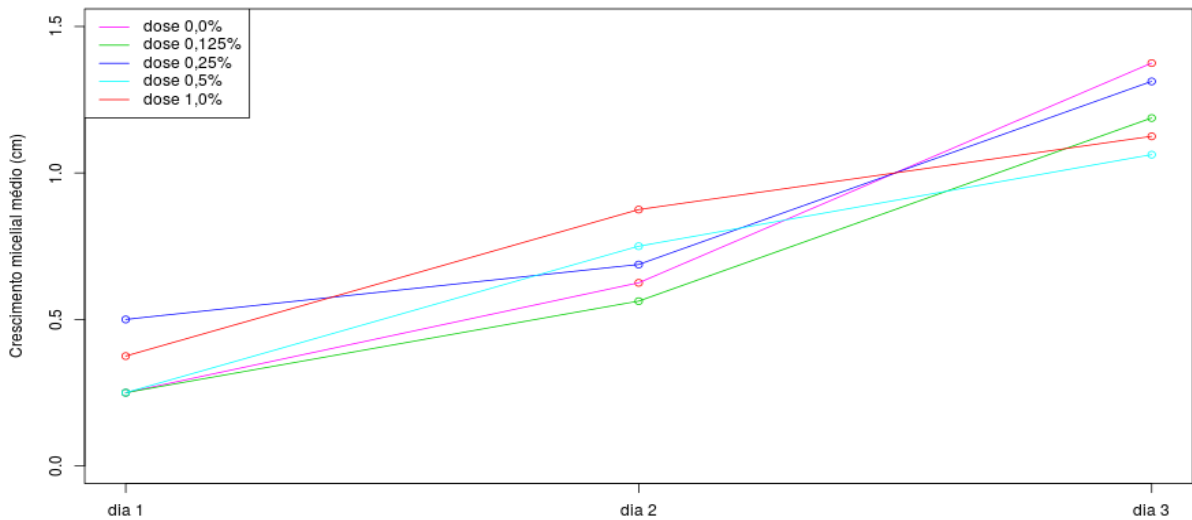


Figura 6: Crescimento micelial do fungo *B. cinerea* em meio de cultura com a adição de diferentes concentrações de óleo de Chia (0, 0,125, 0,25, 0,5 e 1%) após 72 em B.O.D. com temperatura de 24°C - Dois Vizinhos-PR, 2015.

Resultados semelhantes foram encontrados por Daferera et al. (2003), os quais indicaram que *in vitro* o óleo essencial de alecrim não se mostrou eficiente no controle de *Botrytis cinerea*, *Fusarium solani* var. *coeruleum* e *Clavibacter michiganensis*, sendo o alecrim também pertencente da família das Lamiaceae assim como a Chia. Lorenzetti et al. (2011), observou a ação de óleos essenciais de menta, eucalipto, cravo e canela, na inibição da esporulação do fungo, no entanto, o mesmo ainda apresentou crescimento micelial.

Já Soyly et al. (2010), observou que óleos desta mesma família das Lamiaceae, como o óleo de orégano (*Origanum syriacum* L. var. *bevanii*) e lavanda (*Lavandula stoechas* L. var. *stoechas*), demonstraram efeito no controle de *B. cinerea*. Resultados semelhantes são relatados por El Ghaouth et al. (1992) em morangos onde o crescimento micelial de *B. cinerea* e *Rhizopus Stolonifer*, foi inibido com o uso de quitosana (10 e 15 mg ml⁻¹).

Dessa forma, avaliando de forma conjunta os dois experimentos, pode-se afirmar que a redução da incidência de podridões está ligada exclusivamente a indução de resistência, haja visto que não demonstrou ação direta sobre o patógeno.

5 CONCLUSÃO

Óleo de chia quando aplicado na pós-colheita de morangos 'Caminho Real' reduziu a incidência do mofo cinzento, ativando a enzima quitinase, relacionada à defesa vegetal.

A aplicação do óleo não interferiu nas características físico-química dos frutos.

In vitro, o óleo de chia não demonstrou ação fungistática e nem fungitóxica no controle de *Botrytis cinerea*, não interferindo no crescimento micelial.

REFERÊNCIAS

ABREU, C.L.M. **Controle de *Alternaria solani* em Tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) com óleos essenciais**. Botucatu, 2006. 71 f. Tese (Doutorado em Agronomia/Horticultura). Faculdade de Ciências Agrônômicas. Faculdade Estadual Paulista. Botucatu, 2006.

ALMEIDA, H. O. et al. Enzimas marcadoras de indução de resistência diferencialmente reguladas em soja resistente e suscetível à ferrugem-asiática-da-soja. **Pesq. agropec. bras.**, Brasília, v.47, n.2, p.163-172, fev. 2012

ALVARES, C. A. et al. ppe's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**. V. 22, n. 6, p. 711-728. Jan. 2013. 717 p.

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

AYERZA, R.; COATES, W. Composition of chia (*Salvia hispanica*) grown in six tropical and subtropical ecosystems of South America. **Tropical Science**, Nova Jérsei, v. 44, n. 3, p. 131– 135, 2004.

AGRIANUAL - **ANUÁRIO DA AGRICULTURA BRASILEIRA**. São Paulo, FNP, 2008. P 417-419.

BAYSAL, Ö.; SOYLU, E.M.; SOYLU, S. Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* spp. *michiganensis*. **Plant Pathology**, Berlim, v.52, n.6, p.747-753, 2003

BOFF, P. et al. Importância das pétalas no desenvolvimento do mofo-cinza do morangueiro. **Fitopatologia brasileira**, Brasília, v. 28, n.1, p.76-83, 2003.

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

BOSTOCK, R. M. Signal crosstalk and induced resistance: Straddling the between cost and benefit. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.43, p.545-580, 2005.

BUENO, M. et al. Análisis de la calidad de los frutos de *Salvia hispanica* L. (Lamiaceae) comercializados en la ciudad de Rosario (Santa Fe, Argentina). **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas**, Santiago, v. 9, n. 3, p. 221–227, 2010.

CARSTENS M, VIVIER MA, VAN RENSBURG P, and Pretorius IS (2003). Overexpression, secretion and antifungal activity of the *Saccharomyces cerevisiae* chitinase. *Ann Microbiol.* 53:15–28.

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

CECHIM, F. E.; FREDDO, A. R. ; RUBETTI, V. F. ; REY, M. S. ; BUSSO, C. ; MASARO, S. M. **Atividade da quitinase e da glucanase em frutos de maçãs tratados com Quitosana nas pós-colheita e inoculados com *Colletotrichum acutatum***. In: Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos, 2014, Maringá. Anais da Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos, 2014.

CIA, P.; PASCHOLATI, S. F.; BENATO, E. A. Indução de Resistência no Manejo de Doenças Pós-colheita. In: RODRIGUES, F. Á; ROMEIRO, R. S. Indução de resistência em plantas a patógenos. **Anais da III Reunião Brasileira Sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos** – Viçosa, MG, 2007.

COATES, W. Whole and Ground Chia (*Salvia hispanica* L.) Seeds, Chia Oil- Effects on Plasma Lipids and Fatty Acids. In PREEDY, V. R.; WATSON, R. R.; PATEL, V. B. (Ed) **Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention**. San Diego: Academic Press, 2011. p.309-314.

COSTA, H.; ZAMBOLIM, L.; VENTURA, J.A. Manejo integrado das doenças do morangueiro. In: ZAMBOLIM, L (ed). **Manejo integrado de doenças e pragas: produção integrada de fruteiras tropicais**. Viçosa: UFV, cap. 6, p. 131-164, 2003.

CUZZI, C. **Extratos de canola no controle de *Botrytis cinerea in vitro* e do mofo cinzento em pós colheita de morangos.** Dissertação (Mestrado). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós- Graduação em Agronomia. Pato Branco/PR, 2013.

CRUZ, M.E.S. **Produtos alternativos no controle de doenças de pós-colheita de banana (*Musa paradisiaca*L.), maçã (*Malus domestica* Borkh) e laranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck).** 2003. 117p. Tese (Doutorado em Agronomia)-Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2003.

DAFERERA, D.J.; ZIOGASB, B.N.; POLISSIOU, M.G. **The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.** Crop Protection, v.22, n.1, p.39-44, 2003

DEPARTAMENTO DE ECONOMIA RURAL. **Tabelas produção de frutas.** Curitiba, 2013. Versão eletrônica. Disponível em: <http://www.agricultura.pr.gov.br/arquivos/File/deral/Tabelas_producao_frutas>. Acesso em: 09 abr. 2016.

DALLAGNOL, L. J. et al. Utilização de acibenzolar-S-metil para controle de doenças foliares da soja. **Summa Phytopathologica** 32:255-259. 2006

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

EL GHAOUTH, A.; ARUL, J.; GRENIER, J.; ASSELIN, A. **Antifungal activity of chitosan on two postharvest pathogens of strawberry fruits.** Phytopathology, v.82, n.4, p. 398-402, 1992.

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

FACHINELLO, J. C. et al. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, p. 109-120, out. 2011.

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

FURLANI, P. R.; FERNANDES, J. F. **Cultivo hidropônico de morango em ambiente protegido.** In: SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, 2.; ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS, 2004. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. p.102-115.

GERASIMOVA, N.G.; PRIDVOROVA, S.M.; OZERETSKOVSKAYA, O.L. Role of L-phenylalanine ammonia-lyase in the induced resistance and susceptibility of potato plants. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.41, p.103-105, 2005.

GOUVEA, Alfredo de; ZANOTTI, J. ; Luckmann, Daiane ; Pizzatto, M. ; Mazaro, Sergio Miguel ; Possenti, Jean Carlo . **Efeito de extratos vegetais em soja sob condições de laboratório e campo.** Revista Brasileira de Agroecologia, v. 6, p. 70-78, 2011.

GUZZO, S. D. **Aspectos bioquímicos e moleculares da resistência sistêmica adquirida em cafeeiro contra *Hemileiavastatrix*.** 2004. 236 f. Tese (Doutorado) - Centro de energia nuclear na agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2004.

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

HEIL, M.; BOSTOCK, R. M. **Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the context of induced plant defences.** Annals of Botany, London, v.89, p.503-512, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. SIDRA: **Sistema IBGE de Recuperação Automática.** Capturado em 26 fev. 2011. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/listabl.asp?c=818&z=p&o=2&i=P>> Acesso em: 09 abr 2016.

IRITI, M.; FAORO, F. Benzothiadiazole (BTH) induces cell-death independent resistance in: *Phaseolus vulgaris* against *Uromyces appendiculatus*. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v.151, n.3, p.171-180, 2003

IXTAINA, V. Y.; NOLASCO, S. M.; TOMÁS, M. C. Physical properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seeds. **Industrial Crops and Products**, New York, v. 28, n. 3, p. 286–293, 2008.

JIMÉNEZ, F. E. G. **Caracterización de compuestos fenólicos presente en la semilla y aceite de chía (*Salvia hispanica* L.), mediante electroforesis capilar.** 2010. 101p. Tesis (Mestrado em Ciências em Alimentos) Instituto Politécnico Nacional Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Cidade do México, 2010.

KIMATI, H. et al. **Manual de fitopatologia: Doenças das plantas cultivadas.**; 4ª Ed.vol. 2, p. 479 – São Paulo: Agronômica Ceres, 2005.

LORENZETTI, E.R. et al. Bioatividade de óleos essenciais no controle de *Botrytis cinerea* isolado de morangueiro; **Rev. bras. plantas med.** vol.13 no.spe Botucatu, 2011.

LUCKMANN, D.; MAZARO, S. M. ; PADILHA, T. R. ; GUIMARAES, S. S. ; SZEPAHUK, V. . Indução de Fitoalexinas em cotilédones de soja (*Glicine max*) em resposta a derivados de folhas de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.). In: Seminário: Sistemas de Produções Agropecuários da UTFPR, 2007, Dois Vizinhos.

LUENGO, R. C. A. et al. Tabelas de composição nutricional das hortaliças. Brasília (DF): **EMBRAPA**, 2000.

MAZARO, Sérgio Miguel. *Indução de resistência à doenças em morangueiro pelo uso de elicitores.* 2007.86f. Tese (Doutorado)- Programa de Pós graduação em Agronomia / Produção Vegetal, Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2007.

MAZARO, S. M; GOUVEA, A; JUNIOR, A. W; CITADIN, I. **Enzimas Associadas à Indução de Resistência em Morangueiro pelo Uso de Quitosana e Acibenzolar-S-Metil.** Revista Ciências Exatas e Naturais, Vol.14, nº 1, Jan/Jun 2012

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

MAZARO, S.M.; CITADIN, I.; GOUVÊA, A.; LUCKMANN, D.; GUIMARÃES, S.S. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a derivados de folhas de Pitangueira, **Ciência Rural**, Santa Maria, v.38, n.7, p.1824-1829, 2008.

MINISTERIO DA AGRICULTURA, PECUARIA E ABASTECIMENTO. BION R 500 WG – registro no 05801. Brasil: **MAPA**, p.10, 2016.

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

MUCHA, J.; DAHM, H.; STRZELCZYK, E.; WERNER, A. Synthesis of enzymes connected with mycoparasitism by ectomycorrhizal fungi. **Archives of Microbiology**, v.185, p.69-77, 2006.

OOSTENDORP, M. et al. Induced disease resistance in plants by chemicals. **European Journal of Plant Pathology**, v.107,.19–28, 2001.

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

POZO, S. A. **Alternativas para el control químico de malezas anuales en el cultivo de la Chía (*Salvia hispánica*) en la Granja Ecaa, provincia de Imbabura**. 2010. 113p. Tesis (Ingeniera Agropecuaria) Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito, 2010.

RABELO, J. A.; BALARDIN, R. S. **A Cultura do morangueiro**. 2.ed. Florianópolis-SC: Empresa Brasileira de Pesquisa e Difusão de tecnologia de Santa Catarina S>A-EPAGRI, 1993.

RADIN, B. et al. Desempenho de quatro cultivares de morangueiro em duas regiões ecoclimáticas do Rio Grande do Sul. **Horticultura Brasileira**, Vitória da conquista vol.29 nº.3. 2011.

RODRIGUES, A. A. C.; NETO, E. B.; COELHO, R. S. B. Indução de resistência a *Fusariumoxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em caupi: eficiência de indutores abióticos e atividade enzimática elicitada. **Fitopatologia Brasileira**, v. 31, n. 5, p. 492- 499, 2006.

RYALS J.; NEUENSCHWANDER U.; WILLITS M.; MOLINA A.; STEINER H.Y.; HUNT, M.D. Systemic acquired resistance. **The Plant Cell**, v. 8, n.10, p.1809-1819, 1996.

SALGADO, A. P. S. P.; CARDOSO, M. G.; SOUZA, J. A.; SOUZA, P. E.; SHAN, A. Y. K. V.; GONÇALVES, L. D. Constituintes químicos do óleo essencial de folhas de *Eucalyptus* e sua atividade biológica. Poços de Caldas: **SBQ**, 2001.

SANTOS, H. A. A. et al. Controle de doenças do trigo com fosfitos e acinbenzolar-s-metil isoladamente ou associados a piraclostrobina+ epoxiconazole. **Semina: Ciências Agrárias** 32:433-442, 2011

SILVA, A.F.; DIAS, M.S.C.; MARO, L.A.C. Botânica e fisiologia do morangueiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.28, n.236, p. 7-13, 2007.

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

SCHWAN-ESTRADA, Kátia Regina Freitas; STANGARLIN, José Renato; PASCHOLATI, Sérgio Florentino. **Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal**. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. (Ed.). *Interação Planta Patógeno fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular*. Piracicaba: FEALQ, 2008. p.227-248.

SOYLU, E.M.;KURT, S.; SOYLU, S. In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*, **International Journal of Food Microbiology**, v. 143, p. 183-9, 2010.

STICHER, L.; MAUCH, M. B; METRAUX J.P. Systemic acquired resistance. **Annual Rešiew of Plant Pathology** 35: 235–270. 1997.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**; Tradução: SANTAREM et al., 3o ed., Porto Alegre: Artmed, 719p., 2004.

TANAKA, M.A.S. Controle das doenças causadas por fungos e bactérias em morangueiro. In: ZAMBOLIM, L.; VALE, F.X.R.; MONTEIRO, A.J.A.; COSTA H. (Eds.) **Controle de Doenças de plantas: fruteiras**. Viçosa: UVF, 2002, p.69-140.

TAVARES, G. M. et al. Indução de resistência do mamoeiro à podridão radicular por indutores bióticos e abióticos. **Pesp. agropec. bras.** v. 44, n. 11, p. 1416-1423, 2009.

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

TEAM, R Development Core. The R Project for Statistical Computing. Vienna, Austria: [s.n.], 2015. Disponível em: <http://www.r-project.org/>. Acesso em: 03 mai. 2016.

THORMAR, H. Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents. John Wiley & Sons Ltd, London, p. 338, 2012.

TZORTZAKIS NG. Maintaining postharvest quality of fresh produce with volatile compounds. **Innov Food Sci Emerg**. 2007;8:111–116.

WOLFFENBUTTEL, A. N. Mas afinal o que são óleos essenciais. **Informativo – CRQ-V**. Porto Alegre, v.11, n 105, p. 6-7. 2007 .