

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CLAUDIA APARECIDA GUGINSKI PIVA**

**EXTRATOS DE CANOLA E PRÓPOLIS NO CONTROLE DE OÍDIO EM  
PEPINEIRO**

**DISSERTAÇÃO**

**PATO BRANCO**

**2013**

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CLAUDIA APARECIDA GUGINSKI PIVA**

**EXTRATOS DE CANOLA E PRÓPOLIS NO CONTROLE DE OÍDIO EM  
PEPINEIRO**

**DISSERTAÇÃO**

**PATO BRANCO**

**2013**

CLAUDIA APARECIDA GUGINSKI PIVA

**EXTRATOS DE CANOLA E PRÓPOLIS NO CONTROLE DE OÍDIO EM  
PEPINEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Idalmir dos Santos

Co-Orientador: Prof. Dr. Américo Wagner  
Junior

PATO BRANCO

2013

Catálogo na Fonte por Elda Lopes Lira CRB9/1295

P693e Piva, Claudia Aparecida Guginski

Extratos de canola e própolis no controle de oídio em pepineiro / Claudia Aparecida Guginski Piva. – 2013.

92 f. : il. ; 30 cm

Orientador: Idalmir dos Santos

Coorientador: Américo Wagner Júnior

Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco / PR, 2013.

Bibliografia: f. 66-88

1.*Podosphaera fuliginea*, 2.*Brassica napus* L., 3. Indução de resistência. 4. isotiocianatos.

I.Santos, Idalmir dos, orient. II.Wagner Júnior, Américo, coorient. III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. V. Extratos de canola e própolis no controle de oídio em pepineiro.

CDD (22.ed.) 630

## DEDICO

A Deus, que em sua infinita sabedoria, nem sempre me deu o que pedi, mas certamente, sempre me deu o melhor e muito mais do que mereço.

Aos meu pais Elio e Pasquina Guginski, exemplos de perseverança, de amor, de honestidade e de força de vontade, meus exemplos por toda a vida. A minha irmã Cleusa Guginski, pelo amor e carinho. Certamente fui muito abençoada em tê-los como família.

Ao meu amado esposo Jonatas Thiago Piva, que sempre esteve ao meu lado, me ajudou trilhar por esse caminho e me serviu de exemplo de esforço e dedicação. O seu companheirismo e amor foram essenciais.

## AGRADECIMENTOS

A Universidade Tecnológica Federal do Paraná pelas inúmeras oportunidades;

Ao programa de pós-Graduação em Agronomia – Produção Vegetal – UTFPR Campus Pato Branco;

Ao meu orientador Idalmir dos Santos, que respeito e admiro muito como profissional e, que depois de mais de 6 anos de orientação e convivência posso chamá-lo de amigo. Muito obrigada professor Idalmir, seus ensinamentos serão levados comigo, assim como suas piadinhas a respeito de ... tudo!

Ao meu co-orientador Américo Wagner Júnior, pela ajuda sempre que solicitada e pela colaboração.

Ao professor Abramo Marchese, à professora Marisa de Cacia Oliveira e aos bolsistas do laboratório de fisiologia vegetal, pela ajuda e disponibilização do laboratório.

Aos professores Paulo Cesar Conceição e Tangriani Simioni Assmann, pela amizade e concessão de bolsa, durante parte do mestrado.

Aos amigos do laboratório de fitopatologia, Patrícia, Dalmo, Andrei, Alexandre, Rubia e Josicléa, pela ajuda na realização do trabalho, pela amizade e pela adorável convivência. Também aos colegas de mestrado e de laboratórios vizinhos.

A minha amiga e companheira de experimentos Mariana Flores, que muito me ajudou e tornou meus dias mais alegres.

A minha amada amiga (filha) Kelly Pazolini, pela ajuda nos trabalhos, mas principalmente pela amizade, que me é muito valiosa.

Ao meu amigo Daniel Heck, que além de ser um amigo muito especial, me ajudou grandemente na realização deste trabalho. Não teria conseguido sem sua ajuda Dani!

A Deus por todas essas pessoas que tive oportunidade de conviver, porque, se ainda que o trabalho não tivesse valido a pena, certamente as amizades valeriam.

Aos meus pais Elio e Pasquina e a minha irmã Cleusa, pelo apoio e incentivo, pelos quais tenho amor incondicional.

Ao meu esposo Jonatas pelo incentivo, amor e carinho e por sempre estar ao meu lado “na alegria e na tristeza”. Amo muito!

O senhor é meu pastor, nada me faltará.  
Em verdes prados ele me faz repousar.  
Conduz-me junto as águas refrescantes,  
restaura as forças de minha alma.  
Pelos caminhos retos ele me leva,  
por amor do seu nome.  
Ainda que eu atravesse o vale escuro,  
nada temerei pois estais comigo.  
[...]

A vossa bondade e misericórdia hão de seguir-me  
por todos os dias da minha vida.

*“Salmo 22”*

## RESUMO

PIVA, Claudia Aparecida Guginski. Extratos de canola e própolis no controle de oídio em pepineiro. 92 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

O oídio, causado pelo fungo *Podosphaera fuliginea*, é uma doença de ocorrência universal, considerada uma das mais comuns entre as cucurbitáceas. Todas as espécies são suscetíveis, contudo a severidade está condicionada ao tipo de clima, espécies e cultivares. Na cultura do pepino (*Cucumins sativus* L.) o oídio provoca danos principalmente em cultivos protegidos, necessitando da utilização de produtos tóxicos no seu controle. É crescente o interesse pelos métodos alternativos de controle, englobando os biológicos, orgânicos ou naturais, por apresentar alternativas de controle eficientes, tendo como características o baixo potencial de contaminação ao ambiente, a saúde do aplicador e do consumidor. Experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e repetidos em dois cultivos, com a utilização de extratos de canola e própolis para controle de oídio em pepineiro. No primeiro experimento testou-se o efeito potencial, de extratos de pó de canola (*Brassica napus* L.) em quatro formas de extração: extrato alcoólico, infusão, maceração e extrato aquoso e cinco concentrações de cada extrato: 0, 3, 6, 9, e 12%. A primeira aplicação foi realizada 24 horas antes de submeter as plantas ao inóculo do patógeno e as demais semanalmente, num período de 5 semanas. Avaliou-se a incidência e severidade da doença e o efeito elicitor dos extratos na indução de resistência por meio da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL), fenóis totais e proteínas totais. No segundo experimento testou-se o efeito de extrato etanólico de própolis aplicado em épocas e concentrações distintas: 24 horas antes da inoculação do patógeno, 24 horas após a inoculação e no aparecimento dos primeiros sintomas da doença com concentrações de 0% (água destilada) 0,5; 1; 2; 4 e 8% do extrato. No primeiro experimento, verificou-se maior atividade da FAL e maior acúmulo de fenóis totais, sendo estes parâmetros relacionados à redução da AACPD para a incidência e severidade do oídio. Destacou-se como melhor controle o extrato maceração na concentração de 12%, com redução de mais de 50% de incidência e mais de 90% de severidade da doença. No segundo experimento verificou-se que o extrato aquoso de própolis aplicado 24 horas antes e 24 horas após a inoculação do patógeno conferiu melhor controle da AACPD da severidade e incidência, quando comparadas a aplicação no aparecimento dos primeiros sintomas da doença. Esse efeito foi mais significativo quando utilizou-se a concentração de 8%. Os resultados obtidos em ambos os experimentos demonstram que o extrato do pó de canola, assim como, o extrato alcoólico de própolis possuem potencial para controle de oídio em pepineiro.

**Palavras-chave:** *Podosphaera fuliginea*. *Brassica napus* L. indução de resistência, isotiocianatos.

## ABSTRACT

PIVA, Claudia Guginski Aparecida. Canola and própolis extracts for control of powdery mildew in cucumber. 92 f. Dissertation (MSc in Agronomy) - Graduate Program in Agronomy (Area of Concentration: Crop), Federal Technological University of Paraná. Pato Branco, 2013.

Powdery mildew, caused by the fungus *Podosphaera fuliginea*, is a disease of universal occurrence, considered one of the most common among cucurbits. All species are susceptible, but the severity depends on the type of climate, species and cultivars. In the culture of cucumber (*Cucumis sativus* L. *Cucumins*) powdery mildew causes damage mainly in greenhouses, necessitating the use of toxic products in your control. The interest in alternative methods of control is growing, including the biological, organic or natural alternatives to present efficient control, with features like the low potential for contamination to the environment, the health of the operator and the consumer. Experiments were conducted in a greenhouse and repeated in two crops, using canola and própolis extracts to control powdery mildew in cucumber. In the first experiment was tested the potential effect of powder canola (*Brassica napus* L.) extracts in four forms of extraction: alcoholic, infusion, maceration and aqueous extract and five concentrations of each extract: 0, 3, 6, 9 and 12%. The first application was made 24 hours before the pathogen inoculation and other weekly for a period of 5 weeks, measuring the incidence and severity of disease and the elicitor effect of extracts in the induction of resistance by the enzyme phenylalanine ammonia lyase (FAL), total phenolics and total proteins. In the second experiment was tested the effect of ethanol propolis extract applied in different times and concentrations: 24 hours before the pathogen inoculation, 24 hours after pathogen inoculation and the appearance of the firsts disease symptoms with 0% (distilled water); 0,5; 1; 2; 4 and 8% of the extract. In the first experiment, there was a higher activity of FAL and greater accumulation of phenolic compounds, which are parameters related to the reduction of AUDPC for the incidence and severity of powdery mildew, highlighting how the best to control the maceration extract at a concentration of 12%, with reduced more than 50% incidence and more than 90% disease severity. In the second experiment it was found that a própolis aqueous extract applied 24 hours before and 24 hours after the inoculation of the pathogen gave better control of AUDPC the incidence and severity when compared to application in the first disease symptoms. This effect was more significant when it was used at a concentration of 8%. The results in both experiments showed that the powder canola extract, as well as the alcoholic própolis extract, have potential for control of powdery mildew on cucumber.

Keywords: *Podosphaera fuliginea*. *Brassica napus* L. induction of resistance, isothiocyanates.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação das concentrações de 0, 3, 6, 9 e 12% dos extratos obtidos por maceração, infusão, aquoso e alcoólico. Primeiro cultivo UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.....37
- Figura 2 – Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação das concentrações de 0, 3, 6, 9 e 12% dos extratos obtidos por maceração, infusão, aquoso e alcoólico. Segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.....38
- Figura 3 – Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPSD) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação das concentrações de 0, 3, 6, 9 e 12% dos extratos obtidos por maceração, infusão, aquoso e alcoólico. Primeiro cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.....39
- Figura 4 – Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPSD) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação das concentrações de 0, 3, 6, 9 e 12% dos extratos obtidos por maceração, infusão, aquoso e alcoólico. Segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.....40
- Figura 5 – Teor de proteínas obtido das plantas de pepino, de acordo com a forma de extração, concentração de extrato e tempo de coleta, sendo para A - tempo 0, B - tempo 1, C - tempo 2, D – tempo 3 durante o primeiro cultivo e E - tempo 0, F - tempo 1, G – tempo 2, H – tempo 3 para o segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.....42
- Figura 6 – FAL obtida de plantas de pepino, de acordo com a forma de extração, concentração de extrato e tempo de coleta, sendo para A - tempo 0, B - tempo 1, C - tempo 2, D – tempo 3 durante o primeiro cultivo e E - tempo 0, F - tempo 1, G - tempo 2, H – tempo 3 para o segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.....44
- Figura 7 – Fenóis obtidos das plantas de pepino, de acordo com concentrações dos extratos e tempo de coleta: Anterior (anterior a primeira aplicação dos extratos); 24 hs (24 horas após a primeira aplicação); 72 hs (72 horas após a primeira aplicação); 144 hs (144 horas após a primeira aplicação). Segundo cultivo. Pato Branco -PR, 2012.....47
- Figura 8 – Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação de diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis (0; 0,5; 1; 2; 4 e 8%), em três épocas de aplicação (24 horas antes da inoculação do patógeno, 24 horas após a inoculação e no aparecimento dos primeiros sintomas da doença). Primeiro cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2011.....58
- Figura 9 – Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação de diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis (0; 0,5; 1; 2; 4 e 8%), em três épocas de aplicação (24 horas antes da inoculação do patógeno, 24 horas após a

inoculação e no aparecimento dos primeiros sintomas da doença). Segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2011.....	59
Figura 10 – Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPSD) de oídio ( <i>Podosphaera fuliginea</i> ) em pepineiro em função da aplicação de diferentes concentrações de extrato de própolis (0; 0,5; 1; 2; 4 e 8%). Primeiro cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2011.....	60
Figura 11 – Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPSD) de oídio ( <i>Podosphaera fuliginea</i> ) em pepineiro em função da aplicação de diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis (0; 0,5; 1; 2; 4 e 8%). Segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2011.....	61

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Teores de fenois obtidos de plantas de pepino em função de quatro tempos de coleta do material vegetal, anterior e após a primeira aplicação dos extratos de canola. Primeiro cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.....	45
Tabela 2- Teores de fenois obtidos de plantas de pepino em função de quatro tempos de coleta do material vegetal, anterior e após a aplicação dos extratos de canola. Segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.....	46
Tabela 3- Área abaixo da curva de progresso da severidade de oídio ( <i>Podosphaera fuliginea</i> ) (AACPD) em pepineiro em função de três épocas de aplicação do extrato etanólico de própolis. Primeiro e segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2011..	62

## LISTA DE SIGLAS

AACPD	Área Abaixo da Curva de Progresso da Doença
EEP	Extrato Etanólico de Própolis
FAL	Fenilalanina amônia-liase
PR	Unidade da Federação – Paraná
RP	Proteína relacionada à Patogenicidade

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>14</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>16</b>
2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DO PEPINO.....	16
2.2 OÍDIO EM CUCURBITÁCEAS.....	17
2.3 UTILIZAÇÃO DE <i>BRASSICAS</i> sp. NO CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS.....	19
2.4 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A DOENÇAS FITOPATOGÊNICAS.....	21
2.5 UTILIZAÇÃO DE PRÓPOLIS NO CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS.....	24
<b>3. CAPÍTULO I – EXTRATOS DE CANOLA NO CONTROLE DE OÍDIO EM PEPINEIRO .....</b>	<b>28</b>
3.1 RESUMO.....	28
3.2 ABSTRACT.....	28
3.3 INTRODUÇÃO.....	29
3.4 MATERIAL E MÉTODOS .....	31
3.4.1 Obtenção dos Extratos de Canola.....	31
3.4.1.1 Extrato Alcoólico.....	31
3.4.1.2 Extrato Obtido sob Infusão.....	31
3.4.1.3 Extrato Obtido Através da Maceração.....	32
3.4.1.4 Extrato Aquoso.....	32
3.4.2 Efeito dos Extratos do Pó de Canola em Oídio.....	32
3.4.3 Avaliações da Intensidade da Doença.....	33
3.4.4 Avaliações Bioquímicas.....	34
3.4.5 Análise dos Dados.....	35
3.5 RESULTADOS .....	36
3.5.1 Efeito dos Extratos de pó de Canola no Controle do Oídio.....	36
3.5.2 Efeito dos Extratos do Pó de Canola nos Teores de Proteínas, de Fenilalanina amônia-liase (PAL) e de Fenóis em pepineiro.....	41
3.6 DISCUSSÃO.....	47
3.7 CONCLUSÕES.....	51

<b>4. CAPÍTULO II – EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS NO CONTROLE DE OÍDIO EM PEPINEIRO .....</b>	<b>52</b>
4.1 RESUMO.....	52
4.2 ABSTRACT.....	52
4.3 INTRODUÇÃO.....	53
4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	55
4.4.1 Preparo do Extrato Etanólico de Própolis.....	55
4.4.2 Efeito do Extrato Etanólico de Própolis Sobre o Oídio.....	55
4.4.3 Avaliações de Incidência e Severidade da Doença.....	56
4.4.4 Análise dos Dados.....	57
4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	57
4.6 CONCLUSÕES.....	64
<b>5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>65</b>
REFERÊNCIAS.....	66
INDICE DE APÊNDICES.....	79

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A crescente demanda mundial por alimentos isentos de agrotóxicos tem impulsionado produtores a buscarem métodos alternativos de controle de doenças e que sejam ecologicamente corretos e economicamente viáveis. Dessa forma, o produtor tem, cada vez mais, priorizado em seu sistema de produção, alternativas biorracionais de controle de doenças, com o principal objetivo de reduzir o uso de defensivos agrícolas.

Um dos principais entraves da produção agrícola são as doenças de plantas, que podem ocasionar perdas econômicas significativas, com demanda extremamente grande por fungicidas, que, além dos problemas quanto à presença de resíduos nos alimentos e meio ambiente, também tornam o processo produtivo mais oneroso.

O uso de produtos naturais tem grande potencial de controle de doenças em plantas e vão ao encontro de sistemas produtivos adequados as exigências do consumidor, reduzindo ou até mesmo eliminando os efeitos negativos do uso de agrotóxicos. O controle com uso de extratos vegetais tem seu efeito comprovado sobre diversos fitopatógenos e extratos a base de canola e produtos como a própolis estão incluídos nesta linha de produtos de baixo ou nulo impacto.

A vantagem da utilização tanto da própolis quanto da canola para controle de doenças é que ambos são de fácil obtenção, encontradas na maioria das propriedades da região Sul do Brasil, o que torna sua aplicabilidade de baixo custo ao produtor.

Embora o controle de patógenos habitantes do solo já tenha seu efeito positivo comprovado com a utilização de brássicas, incluindo a canola, são poucos os trabalhos realizados com a utilização de canola para controle de patógenos da parte aérea das plantas. Estes mesmos resultados são observados com a utilização da própolis para controle de doenças fúngicas, haja vista, que a maioria dos trabalhos realizados com a utilização deste composto é feita com bactérias e, além disso, são poucos os trabalhos realizados *in vivo*.

Até o presente momento, não foi encontrado na literatura trabalhos realizado com a utilização tanto de extratos de canola como de extrato de própolis para controle de oídio em pepino. Esta cultura é suscetível a diversas doenças que causam a redução da produção, do valor econômico do fruto e aumento do custo de produção, contudo, o oídio causado pelo fungo *Podosphaera fuliginea* (Schltl.) U. Braun & S. Takam (2000) é uma das principais doenças da cultura, podendo causar severos danos ao cultivo.

Dessa forma, este estudo busca demonstrar as práticas eficientes no controle de oídio em pepineiro, por meio da utilização de extrato de canola e própolis, os quais são produtos que podem ser encontrados dentro da propriedade familiar e/ou orgânica, minimizando os efeitos ambientais, reduzindo custos e aumentando o valor agregado do produto cultivado sem uso de produto químico.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A CULTURA DO PEPINO

A família das cucurbitáceas engloba 2 sub-famílias (*Zanoinioideae* e *Cucurbitoideae*) e cerca de 118 gêneros e 825 espécies, sendo que destas, apenas 26 cultivadas como olerícolas. São cultivadas em praticamente todos os países, principalmente pelo valor alimentício de seus frutos (ROBINSON & DECKER-WALTERS, 1999). O cultivo de cucurbitáceas também tem grande importância social, na geração de empregos diretos e indiretos, desde o cultivo até a comercialização, devido a grande demanda por mão-de-obra (CARDOSO & SILVA, 2003).

O pepineiro (*Cucumis sativus* L.) é a segunda cucurbitácea mais plantada no mundo, ficando atrás apenas da melancia. Seu cultivo data cerca de 3000 anos entre a Índia e o Nepal, constituído em uma importante fonte de alimento. O fruto é consumido principalmente em saladas ou em conserva tipo pickles (ALMEIDA, 2006). O pepino é também fonte de matéria-prima para cosméticos e medicamentos em razão de suas propriedades nutracêuticas (MICHEREFF FILHO et al., 2012).

A planta de pepino é herbácea, provida de gavinhas, com internódios longos e finos e crescimento indeterminado. É uma planta monóica predominante, com flores masculinas e femininas de polinização cruzada, embora, também existe muitas cultivares ginóicas (com tendência à partenocarpia) (FONTES & PUIATTI, 2005).

A cultura do pepino pode ser manejada de forma rasteira ou tutorada, em ambiente aberto ou em cultivo protegido, abrangendo tanto o modelo de produção convencional como orgânico (MICHEREFF FILHO et al., 2012). Entretanto, por ser uma planta de origem subtropical e apresentar sensibilidade a baixas temperaturas, tem-se intensificado a utilização de ambientes protegidos. Nesse sistema o pepineiro é uma das hortaliças mais plantadas, principalmente devido a possibilidade de plantio em épocas que normalmente seriam impróprias para cultivo e também em função da maior proteção oferecida às plantas quanto as adversidades climáticas. (HORA, 2006).

Essa cultura é suscetível a diversas doenças, como a mancha de leandria (*Leandria momordicae* Rangel), mancha de alternária (*Alternaria cucumerina* (Ellis & Everh.) J.A. Elliott), míldio (*Pseudoperonospora cubensis* Berk. & Curt.), antracnose foliar (*Colletotrichum orbiculare* (Berk. & Mont.)), mancha alvo (*Corynespora cassiicola* (Berk. & Curt.) Wei), mancha angular bacteriana (*Pseudomonas syringae* pv. lachrymans Smith &

Bryan), contudo, o oídio causado por *Podosphaera fuliginea* é a mais comum, principalmente em cultivo protegido.

## 2.2 OÍDIO EM CUCURBITÁCEAS

O oídio é uma das principais doenças foliares das cucurbitáceas, cultivadas ou silvestres, com ocorrência em praticamente todos os locais de cultivo, sendo mais limitante em locais onde predominam condições de alta temperatura e baixa umidade durante a época de cultivo (regiões semi-áridas) ou sob cultivo protegido (KUROZAWA & PAVAN, 1997).

Existem no mínimo seis espécies causadoras de oídio em cucurbitáceas, incluindo *Erysiphe communis* Link, *Erysiphe polygoni* St-Am., *Erysiphe polyphaga* Hammarlund, *Leveillula taurica* Arnaud, *Erysiphe cichoracearum* Mérat e *Sphaerotheca fuliginea* Pollaci sendo as duas últimas as mais frequentes e de maior importância econômica (VAKALOUNAKIS et al., 1994; STADNIK, KOBORI & BETTIOL, 2001).

Em regiões de clima temperado e regiões de clima seco, *E. cichoracearum* apresenta maior importância (AL-RADDAD, 1993; BRAUN, 1995; BARDIN et al., 1999). Sua gama de hospedeiros é bem superior a *S. fuliginea* que afeta normalmente apenas cucurbitáceas (SITTERLY, 1978; BARDIN et al., 1997). No entanto, *S. fuliginea*, reclassificado como *Podosphaera fuliginea* (Schltdl.) U. Braun & S. Takam (2000) é encontrado principalmente em climas tropicais e subtropicais, necessita de umidade superior que *E. cichoracearum* e é observado com maior frequência em cultivos protegidos (SITTERLY, 1978; VAKALOUNAKIS et al., 1994; BRAUN & TAKAMATSU, 2000).

Os agentes causais de oídios são fungos parasitas obrigatórios, ou seja, que dependem do hospedeiro vivo para seu crescimento e reprodução (BEDENDO, 1995). Dessa forma, o fungo explora apenas o conteúdo da célula sem que ocorra o extravasamento do conteúdo celular, permitindo então que o tempo de exploração se estenda por um longo período (STADNIK, 2000).

Quando em condições de alta umidade e temperatura (18 e 22°C), o desenvolvimento, esporulação, penetração e formação dos conídios, são favorecidos. A disseminação dos conídios ocorre a longas ou a curtas distâncias por meio do vento e da água, sendo que mesmo com umidade relativa abaixo de 20%, a germinação e a infecção são possíveis, mediante utilização da água contida nos vacúolos celulares do fungo (STADNIK et al., 2001).

Os primeiros sintomas da doença ocorrem com o surgimento de manchas amareladas nas folhas, evoluindo para marrom até secarem completamente (BETTIOL & ASTIARRAGA, 1998). Quando as plantas são afetadas prematuramente pelo patógeno, as folhas apresentam clorose ou queda prematura, as plantas perdem o vigor, e os frutos amadurecem antes do tempo e perdem o sabor (STADNIK et al., 2001).

O controle de oídio em cucurbitáceas baseia-se fundamentalmente na utilização de produtos químicos. Entretanto, com o aumento das exigências quanto aos procedimentos fitossanitários, tem-se intensificado pesquisas com utilização de métodos de controle alternativo. Como a utilização de controle biológico com a utilização dos fungos *Ampelomyces quisqualis*, *Verticillium lecanii* (Zimmerman) Viegas e *Trichoderma harzianum* Rifai (1969); leveduras *Stephanoascus* spp. e *Tielletopsis* spp.; e bactérias *Bacillus subtilis* (ehrenberg 1835) cohn 1872 e *Pseudomonas fluorescens* (Flügge 1886) Migula, 1895, que tem demonstrado resultados positivos (STADNIK et al., 2001).

Outro método alternativo ao uso de fungicidas no controle de oídio é a aplicação semanal de leite de vaca cru na concentração de 5 a 10%. O leite de vaca cru pode atuar através de vários mecanismos de ação, como: a formação de um filme microbiano sobre a superfície foliar; propriedades antimicrobianas; indução de resistência e controle direto do fitopatógeno (BETTIOL et al., 1999).

A utilização de extratos de plantas vem sendo muito estudada no controle de doenças de plantas, devido a seus inúmeros meios de ação. O produto comercial Milsana® é um extrato de *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai e quando aplicado semanalmente na dosagem de 2% controlou *S. fuliginea* em pepino, em proporções semelhantes ao do produto químico (DAAYF et al., 1995). A eficácia de extratos vegetais de *R. sachalinensis*, a partir de folhas secas e do produto comercial, foi comprovada também no controle de oídio em pepino, em casa de vegetação, mesmo sob alta pressão de inóculo do patógeno. Os extratos de *R. Sachalinensis* reduziram a severidade de oídio em aproximadamente 90% (KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS & SCHMITT, 1998).

A eficácia de óleo de canola e extratos de nim foram testados para o controle de oídio em rosas (*Sphaerotheca pannosa rosae* var.) proporcionando controle satisfatório da doença (PASINI et al., 1997).

O efeito do óleo, do extrato de sementes e do extrato de folhas de nim (*Azadirachta indica*) foi testado no controle do oídio do feijoeiro em casa de vegetação e, constatou-se que o extrato de folhas não foi eficiente no controle do oídio do feijoeiro, no entanto, o óleo e o extrato de sementes de nim controlou a doença (CARNEIRO et al., 2007). Dentre outros, a

utilização de extratos de cavalinha (*Equisetum* spp.) (FRANCISCO & MIO, 1998), de mamão (*Carica papaya*) (AMADIOHA, 1998), de curcuma (*Curcuma longa* L.), de casca de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) (VECHET et al., 2009), e extratos de *Euphorbia humifusa* Willd., *Robinia pseudoacacia* L., *Photinia serrulata* Lindl e *Cucurbita moschata* (Duch.) Poiret (LIU et al., 2010) são algumas plantas que vem demonstrando potencial no controle do oídio.

### 2.3 UTILIZAÇÃO DE *Brassicas* sp. NO CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS

São vários os estudos realizados com as mais diversas brássicas, principalmente para o controle de patógenos habitantes do solo. Resíduos de repolho associado à solarização do solo controlou *Fusarium oxysporum* Schlecht. emend. Snyder & Hansen e, mesmo após 15 dias de tratamento, houve eliminação dos propágulos do fungo no solo (RAMIREZ-VILLAPUDUA & MUNNECKE, 1986). Resultados semelhantes também foram observados na utilização da solarização em associação com resíduos de crucíferas, com redução de 75% a 96% no inóculo de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich (LODHA et al., 1997).

A utilização de folhas desidratadas de mostarda no controle de *Meloidogyne javanica*, em tomate, apresentou redução de 99% no número de galhas e ovos (LIMA, 2006). Assim como várias espécies de brássicas com e sem associação a cobertura plástica e obtiveram até 93% na redução do número de ovos de *M. javanica* em tomate (NEVES et al., 2007). Diferentes doses de canola triturada incorporadas ao solo infestado com *Pithium aphanidermathum*, aumentaram a emergência e reduziu do número de plantas tombadas em pepino (MOCCELLIN, 2011).

O efeito de brássicas no controle de *Pithium* spp. também foi comprovado com a utilização de farinha de sementes de *B. juncea*. Além do controle do fitopatógeno, os autores observaram que ocorreu controle da doença mesmo após o término de emissão dos isotiocianatos, através da supressão de determinados agentes patogênicos e a proliferação de *Trichoderma* spp. (WEERAKOON et al., 2012).

Várias espécies de Brássica, entre elas a canola, semente de colza, rabanete, nabo, mostarda amarela e mostarda indiana, foram avaliadas para o controle de vários patógenos de solo, causadores de doenças na cultura batata, em casa de vegetação e em ensaios de campo em fazendas comerciais de batata. Tanto nos ensaios *in vitro* como nos teste a campo obser-

vou-se a inibição de vários fitopatógenos, incluindo *Rhizoctonia solani* J.G. Kühn 1858, *Phytophthora erythroseptica* Pethybr., (1913), *Pythium ultimum* Trow, (1901), *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, (1884) e *Fusarium sambucinum* (LARKIN & GRIFFIN, 2007).

A eficácia de vários compostos antifúngicos, foram testados por Pasini et al., (1997) para controle de oídio em rosas (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*), os quais observaram que, dentre outros, o óleo de canola e extrato nim proporcionaram controle satisfatório da doença

A utilização de brássicas no controle alternativo de doenças de plantas tem chamado a atenção de pesquisadores, principalmente devido a produção de compostos oriundos do metabolismo secundário destas plantas, como terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados, que são produzidos com a finalidade de protegê-las do ataque de insetos, patógenos, entre outras funções na planta (TAIZ & ZIEGER, 2009).

Os principais compostos produzidos são conhecidos como glucosinolatos, responsáveis pelo odor característico do gênero, paralelamente, outro composto produzido é a enzima mirosinase, que é responsável pela hidrólise dos glucosinolatos, resultando em compostos voláteis (MITHEN, 2001; MORRA & BOREK, 2010). Essa reação só ocorre quando há ruptura do tecido, pois tais substâncias são produzidas em locais diferentes da planta. Os compostos voláteis resultantes das reações possuem ação inseticida, nematicida, fungicida e herbicida (SMOLINSKA & HORBOWICZ, 1999; BLOK et al., 2000; SCHOENMAKER & GHINI, 2001; NORSWORTHY & MEEHAN, 2005).

Dentre os produtos resultantes da hidrólise, os isotiocianatos são os que possuem maior ação de controle contra os fitopatógenos habitantes do solo (BROWN & MORRA, 1997). Devido a sua volatilidade, rápida degradação e ligação ao grupo nucleofílico encontrado em solos orgânicos, sua meia vida é de cerca de dois dias no solo a temperatura de 20°C (BOREK et al., 1995; MATTHIESSEN et al., 2004; MATTHIESSEN & KIRKEGAARD, 2006; GIMSING et al., 2006). Portanto, é interessante a utilização de espécies de Brássicas que tenham alta capacidade de produção de glucosinolatos em seus tecidos, como é o caso da canola (*Brassica napus* L.) (KIRKEGAARD & SARWAR, 1998; GIMSING & KIRKEGAARD, 2006).

Embora a utilização de extratos vegetais apresente-se como uma realidade no controle de fitopatógenos, demonstrando controle eficiente para diversas doenças de plantas, seja pela ação fungitóxicas direta ou pelo aumento no nível de resistência às doenças da cultura tratada, são escassos os trabalhos que testaram esse método de utilização de brassicas no controle de doenças em parte aérea de plantas, especialmente com canola.

Estudos de diferentes extratos aquoso, entre eles, extrato de canola, demonstraram inibição da esporulação de *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey, (1928) em podridões de frutos de pós-colheita em pêssego, (BALZAN et al., 2011; FLORES et al., 2012) e no controle de *Botrytis cinerea* (De Bary) Whetzel, 1945, em morango (CUZZI et al., 2012). Além disso, diferentes concentrações de extrato aquoso do pó de canola foram testadas na indução de fitoalexinas em cotilédones de soja e, observou-se produção de metabólitos secundários com o aumento das doses testadas. Os resultados obtidos apontam que extratos de canola podem ser responsáveis pela ativação do metabolismo secundário das plantas, promovendo a indução de resistência contra fitopatógenos (GUGINSKI et al., 2011).

## 2.4 INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA A DOENÇAS FITOPATOGÊNICAS

As plantas estão continuamente expostas ao ataque de patógenos, no entanto, desenvolveram, ao longo do processo de evolução, mecanismos de defesa, que quando acionados respondem a agressão de forma efetiva afetiva (PIETERSE et al., 2005). Em geral, as plantas são capazes de se defender do ataque de fungos, bactérias e vírus, dada a multiplicidade e eficiência desses mecanismos, de maneira que, na natureza, a resistência seja uma regra, e a susceptibilidade uma exceção (AGRIOS, 1997).

Os mecanismos de defesa em vegetais podem ser classificados em bióticos e abióticos, de acordo com seu modo de ação e, são capazes de desencadear uma resposta na planta, atuando como indutores de resistência, ou seja, elicitores. (MAZARO et al., 2007; ROMEIRO, 2007). Alguns estudos com elicitores bióticos e abióticos foram realizados por (DANNER et al., 2008; MAZARO et al., 2008; SANTOS et al., 2007; SILVA et al., 2007).

A proteção natural das plantas está baseada em uma série de barreiras pré-formadas, aquelas que estão presentes na planta sem necessidade de contato com agente indutor, e pós-formadas, aquelas produzidos em resposta a um agente indutor (TAIZ & ZEIGER, 2009). Esses dois grupos podem ainda ser subdivididos em estruturais, que atuam como barreiras físicas, ou bioquímicos que são substâncias ou condições adversas criadas pela planta contra o agente indutor (ROMEIRO, 2007; SILVA et al., 2008).

A indução de resistência pode ser expressa localmente, isto é, no mesmo tecido ou órgão que receberam o tratamento de indução, ou sistemicamente, ou seja, numa parte da planta espacialmente separados do tratamento indutor. Além disso, existem dois tipos de

indução de resistência: A resistência sistêmica adquirida (RSA), resistência sistêmica induzida (RSI) (WALTERS, 2009).

A resistência sistêmica adquirida e resistência sistêmica induzida são fenômenos distintos (STICHER et al., 1997), mas fenotipicamente semelhantes, no sentido em que, após a exposição a um agente indutor, as plantas têm seus mecanismos de defesa ativados não apenas no sítio de indução, mas também em outros locais distantes dele. O termo “adquirido” refere-se quando o elicitador é um agente patogênico ou parasita, já o termo “induzido” é empregado quando esse agente é benéfico, simbiote ou abiótico (BARROS et al., 2010).

Embora haja pequenas discordâncias, pesquisadores têm assumido que a RSA abrange o acúmulo de Proteínas Relacionadas à Patogênese (PRPs), como mecanismos induzidos de defesa da planta, sua indução é salicilato-dependente, pode resultar em alterações visuais, como necroses, por exemplo, e geralmente é induzida por patógenos ou ativadores químicos. Por outro lado, na RSI, não há acúmulo de PRPs, sua indução está mais associada à jasmonatos e etileno e a planta que sofreu indução não exhibe alterações, o agente indutor é usualmente um microrganismo não-patogênico (MÉTRAUX, 2001; MAZARO et al., 2007, ROMEIRO, 2007).

As plantas podem produzir compostos de defesa altamente específicos, em resposta ao ataque de patógenos, o que resulta na ativação de diferentes conjuntos de genes relacionados com os mecanismos de defesa (KOORNNEEF & PIETERSE, 2008; BARI & JONES, 2009). Assim, de acordo com o patossistema em estudo, a sinalização é variável em quantidade, tempo e composição das respostas. O contato entre a planta e o patógeno desempenha um papel essencial na ativação de rotas de defesa, consolidando a natureza específica das respostas acionadas (ROJO et al., 2003; DE VOS et al., 2005; MUR et al., 2006). A identificação da ativação destas rotas é importante para o desenvolvimento de estratégias para defesa vegetal. Nesse sentido a quantificação de diversas moléculas como os compostos fenólicos, a fenilalanina amônia-liase (FAL) e as proteínas é fundamental.

Os compostos fenólicos vegetais possuem aproximadamente 10.000 compostos, caracterizando um grupo quimicamente heterogêneo, atuando em diferentes funções, como na defesa contra herbívoros e patógenos, no suporte mecânico, como atrativos de polinizadores e dispersores de frutos, na proteção contra a radiação ultravioleta ou reduzindo o crescimento de plantas competidoras. A lignina e os flavonóides destacam-se entre os compostos fenólicos com ação antimicrobiana. Dentre os flavonóides, os isoflavonóides têm se tornado conhecidos pela sua ação como fitoalexinas. Os compostos fenólicos mais abundantes são derivados da

fenilalanina, por meio de eliminação de amônio para formar ácido transcinâmico. Essa reação é catalizada pela fenilalanina amônia-liase (FAL) (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Na rota do ácido chiquímico são produzidos os aminoácidos aromáticos triptofano, fenilalanina e tirosina (VERMERRIS & NICHOLSON, 2006). A fenilalanina amônia-liase (FAL) está situada em um ponto de ramificação entre o metabolismo primário e secundário e a reação que ela catalisa é uma etapa reguladora importante na formação de muitos compostos fenólicos (TAIZ & ZEIGER, 2009). A FAL está localizada nos cloroplastos das células vegetais, principalmente nas membranas dos tilacóides e atua sobre a fenilalanina removendo o grupamento amônia, convertendo-a para ácido cinâmico e a partir deste são formados diversos compostos fenólicos envolvidos em mecanismos de defesa, tais como lignina, flavonóides (antocianinas), fitoalexinas e o ácido salicílico (CAVALCANTI et al., 2005; EMILIANI et al., 2009; VERMERRIS & NICHOLSON, 2006). A atividade dessa enzima pode ser regulada por diversos fatores e é aumentada por fatores ambientais como níveis de nutrientes, luz e infecções por fungos (VAN LOON et al., 2006).

As PRPs foram primeiramente definidas como proteínas ácidas, de baixo peso molecular, resistentes a proteases, solúveis em ácidos e localizadas nos espaços extracelulares, as quais atuam diretamente em contato com o patógeno no processo de penetração do tecido. Posteriormente, as PRs também foram identificadas nos vacúolos, essas proteínas geralmente exercem um efeito de defesa após a descompartimentalização das células (STICHER et al., 1997). As proteínas PRs, embora possuam algumas características comuns, são classificadas em cinco grupos.

As do primeiro grupo (PR-1), embora sem atividade biológica conhecida, induzem resistência a fungo, mas não a vírus. Por outro lado, as proteínas PR-2 e PR-3 têm ação enzimática: as PR-2 como glucanases (decompõem glucanas) e as PR-3 como quitinases (decompõem a quitina). Essas proteínas estão entre as mais estudadas, principalmente por conferirem proteção as plantas contra a infecção por fungos, haja vista que as glucanas e quitina são os principais componentes de paredes desses fitopatógenos (BARROS et al., 2010). Além disso, possuem atividade hidrolítica, quebrando polímeros estruturais presentes nas paredes dos patógenos, com atividade aumentada quando as plantas são tratadas com indutores de resistência (LABANCA, 2002).

As proteínas do grupo quatro (PR-4), ainda não tem sua atividade biológica conhecida, entretanto, as proteínas do grupo cinco (PR-5) têm grande semelhança com outra proteína, que inibe a ação de enzimas como alfa-amilase e tripsina, sugerindo que as PR-5 podem inibir enzimas digestivas que decompõem proteínas (BARROS et al., 2010)

## 2.5 UTILIZAÇÃO DE PRÓPOLIS NO CONTROLE DE DOENÇAS DE PLANTAS

De origem grega, a palavra própolis resulta da combinação entre as expressões *pró* (defesa) e *polis* (cidade) (SIMÕES et al., 2008). A própolis já era utilizada desde a antiguidade pelos persas, gregos, romanos e incas. Devido a suas propriedades cicatrizantes foi utilizada há mais de 90 anos na África do Sul, como pomada aplicada em ferimentos da guerra. Na segunda guerra mundial, foi experimentada com a mesma finalidade, por clínicas soviéticas (MARCUCCI, 1995).

Igualmente ao mel, a própolis é conhecida desde a antiguidade, utilizada principalmente com fins medicamentosos, entretanto, a investigação de suas ações, efeitos e possíveis aplicações na biologia e na medicina, principalmente como suplemento dietético e na indústria farmacêutica é recente. (FARRÉ et al., 2004).

A própolis é produzida pelas abelhas para proteger as colmeias contra insetos e microrganismos. Também está presente nas paredes internas da colmeia para vedar buracos e rachaduras, reparar os favos de mel, promover a assepsia de locais para a postura da abelha rainha e mumificar de insetos invasores (BANKOVA, 2000, GÓMEZ-CARAVACA et al., 2006; QUIROGA et al., 2006). Apresenta coloração que varia do amarelo a marrom escura, coletada pelas abelhas dos botões e córtex vegetais, transportada para a colmeia e adicionada a ela substâncias resinosas e balsâmicas (50%), ceras (30%), óleos voláteis (10%), pólen (5%), e 5% de uma variedade de substâncias adicionais, tais como restos orgânicos (GRANGE & DAVEY, 1990; UZEL et al, 2005.; PIETA et al, 2002.; GÓMEZ-CARAVACA et al, 2006) e secreções da glândula salivar, tornando-se substâncias ativas (PARK et al., 1997).

A própolis provenientes de todas as regiões do mundo, apresenta diferença na sua composição devido as espécies de plantas das quais as abelhas recolhem a própolis, que variam muito de região para região, resultando em uma grande variedade de constituintes. Santos et al. (2007), afirma que há mais de 300 substâncias existentes na própolis, como ácidos carbônicos, ácidos graxos poliinsaturados e o ácido linoléico.

Alguns autores avaliaram quantitativamente amostras de própolis, oriundas de diferentes países, demonstrando claramente as diferenças na composição dessas amostras. Amostras de própolis obtidas de 14 países ao redor do mundo, foram avaliadas para

determinação das concentrações de compostos fenólicos totais e flavonóides totais. Todas as amostras apresentaram maiores concentrações de fenólicos totais do que flavonóides totais. Além disso, os principais componentes das amostras foram: ácido cafeico, o ácido cumárico, ácido cinâmico derivados, pinobanksin, quercetina, apigenina, kaempferol, pinobanskin, crisina, pinocembrin, galangina, ácidos cafeato, tectochrysin e artepillin (KUMAZAWA et al., 2004)

Um amplo estudo em todos os componentes extraídos de resina de própolis da Anatólia (extremo oeste da Ásia) detectou vários álcoois aromáticos, ácidos aromáticos, benzaldeído, aldeídos aromáticos, ácido cinâmico, ácidos graxos, hidrocarbonetos, flavanonas e flavononas (UZEL et al., 2005). Da mesma forma, Silici & Kutluca (2005) identificaram flavonóides, ácidos alifáticos, ésteres de ácidos aromáticos, álcoois, terpenos, e quinonas. Além disso, a comunidade de abelhas também é um determinante da composição da própolis. Amostras coletadas, de uma mesma região, de *Apis mellifera caucásica*, *A. mellifera carnica* e *A. mellifera anatolica*. Todas as amostras de própolis continham alguns dos compostos mencionados anteriormente, no entanto, cada família diferiu em pelo menos um composto específico (SILICI & KUTLUCA, 2005).

O Brasil apresenta algumas vantagens na utilização da própolis produzida em território nacional para controle de fitopatógenos. Na própolis brasileira há predominância dos ácidos fenólicos que, de acordo com (BURDOCK, 1998), especialmente os flavonóides e ácidos fenólicos, junto com os ácidos carboxílicos modificados são componentes estratégicos, pois são responsáveis pela bioatividade contra vários microrganismos patogênicos. Além disso, o Brasil ainda apresenta outra vantagem, pois a produção ocorre durante todo o ano, permitindo uma variação sazonal na composição. Deste modo, pode-se esperar que algumas atividades biológicas, relacionadas a esses compostos, como a ação antibacteriana e antifúngica sejam similares em diferentes estações do ano (BANKOVA et al., 1998).

Grande parte dos ensaios antimicrobianos de própolis foram contra bactérias patogênicas e leveduras, principalmente na área da saúde. No entanto, alguns estudos demonstram o potencial da própolis no controle de bactérias fitopatogênicas. Em meio de cultura contendo 10% de extrato de própolis foi observado a completa inibição no desenvolvimento de *Agrobacterium tumefaciens*, *Clavibacter michiganensis* e *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*. A espécie *Erwinia chrysantemi*, apesar de apresentar menor sensibilidade, também foi inibida pelo extrato de própolis (PRADO FILHO et al., 1962; MERESTA & MERESTA, 1985; VALDES et al., 1989; GRANGE & DAVEY, 1990). Basim et al. (2006), determinaram a atividade antibacteriana da própolis turco contra 13 bactérias

fitopatogênicas: *A. tumefaciens*, *A. vitis*, *C. michiganensis*, *E. amylovora*, *E. carotovora*, *Pseudomonas corrugata*, *P. savastanoi*, *P. syringae* (4 cepas), *Ralstonia solanacearum*, *X. campestris* e *X. axonopodis*. Todas as bactérias testadas apresentaram sensibilidade ao extrato de própolis, no entanto, *P. syringae* pv. *phaseolicola* destacou-se como a mais sensível.

A atividade antibacteriana pode estar associada ao alto conteúdo de substâncias do tipo flavonóides presentes na própolis (GRANGE & DAVEY, 1990). Outros componentes como o ácido caféico, ácido benzóico, ácido cinâmico, provavelmente agem na membrana ou parede celular do microrganismo, causando danos funcionais e estruturais (LUSTOSA et al., 2008).

Assim como o controle de fitobactérias, a maioria dos trabalhos com utilização de própolis para o controle de fungos é realizada *in vitro*. Várias amostras de própolis, oriundas de diversos países, foram utilizadas para determinar a atividade antimicrobiana contra *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus brevis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* e *Phytophthora syringae* e dos fungos *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, e *Trichoderma viride*, observando que algumas bactérias e fungos foram quase completamente afetados pela própolis (GAREDEW et al., 2004).

A atividade antifúngica de própolis egípcia foi determinada contra nove gêneros de fungos causadores de doenças em pós-colheita e fungos produtores de aflatoxinas em frutas e vegetais. Estes gêneros são *Cladosporium*, *Mucor*, *Scopulariopsis*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Alternaria* e *Rhodotyrla*. Os resultados revelaram que a própolis egípcia induziu a inibição do crescimento de fungos, que variou de acordo com cada fungo (HEGAZI & EL-HADY, 2002).

São poucos os trabalhos realizados em plantas, com a utilização de própolis para o controle de fitopatógenos. Na região Norte do estado do Paraná em cafeeiros com oito anos de idade, avaliou-se a influência de produtos alternativos, dentre eles extrato de própolis, sobre a Cercosporiose e ferrugem do cafeeiro, com resultados que demonstram que, assim como o controle químico, os produtos alternativos mantiveram a área abaixo da curva da progressão da incidência, da *Cercospora coffeicola* e da *Hemileia vastatrix*, inferior ao obtido em cafeeiros sem controle da doença (ANDROCIOLI et al., 2012).

Moraes et al. (2011) avaliaram o efeito da aplicação de fungicidas (protetor e sistêmico) e produtos alternativos, dentre eles o extrato alcoólico de própolis, na redução da severidade de oídio em folhas de tomate em condições controladas. O efeito da aplicação de tebuconazole, silicato de potássio, calda Viçosa e extrato alcoólico de própolis apresentaram maior eficiência quando comparado com os demais tratamentos, com a mesma eficiência do fungicida sistêmico. Giovanelli (2008) avaliou *in vitro* o uso de um extrato etanólico de

própolis (EEP), em abacate, para o controle de *Colletotrichum gloeosporioides*, *Pestalotiopsis guipinii*, um complexo de *Colletotrichum gloeosporioides* e *Pseudocercospora* sp., *Verticillium* sp., *Fusarium* sp. e *Monilia* sp., isolado a partir de frutos de abacate. Através de microscopia eletrônica observou que *Pestalotiopsis guipinii*, *Colletotrichum* sp. e *Colletotrichum gloeosporioides/Pseudocercospora* sp. incubadas em meio de cultura contendo EEP indicou claramente sinais de danos na parede celular, com poros grandes no interior da hifa. Além disso, a germinação de conídios de *Colletotrichum* sp. e *P. guipinii* foi inibida por 98,95% e 40,41%, respectivamente, por EEP. Esse mesmo autor testou EEP em plantas de abacate inoculadas previamente com *Colletotrichum* sp., *P. guipinii* e *C. gloeosporioides/Pseudocercospora* sp., incubadas em estufa, e constatou controle dos patógenos, principalmente de *C. gloeosporioides/Pseudocercospora* sp.

### 3. CAPÍTULO I - EXTRATOS DE CANOLA NO CONTROLE DE OÍDIO EM PEPINEIRO

#### 3.1 RESUMO

A doença oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro (*Cucumis sativus* L.) é uma das principais doenças de cultivo protegido e uma das alternativas para controle é o uso de extratos vegetais. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito potencial e indutor de resistência de extratos de pó de canola (*Brassica napus* L.) no controle do oídio em pepineiro cultivado em ambiente protegido. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em dois cultivos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com quatro repetições, em fatorial 4 x 5, com quatro extratos de pó de canola (maceração, infusão, alcoólico e aquoso) em cinco concentrações (0; 3; 6; 9 e 12%), aplicados primeiramente 24 horas antes de submeter as plantas a presença inóculo do patógeno e subsequentemente a cada 7 dias, por cinco semanas. As análises bioquímicas de proteínas totais, fenilalanina amônia-liase e compostos fenólicos foram realizadas em amostras de plantas coletadas anterior a primeira aplicação e 24, 72 e 144 horas após a primeira aplicação dos extratos. As avaliações de incidência e severidade da doença foram realizadas semanalmente, antecedendo cada aplicação. Houve interação entre os extratos e as concentrações tanto para incidência e severidade da doença. Os extratos de pó de canola maceração e aquoso controlaram a severidade da doença com o aumento das concentrações dos extratos. Os extratos obtidos por maceração e aquoso apresentaram aumento da enzima FAL e de fenóis ao longo do tempo avaliado.

#### 3.2 ABSTRACT

The disease powdery mildew (*Podosphaera fuliginea*) in cucumber (*Cucumis sativus* L.) is one of the main disease of greenhouse and an alternative to control it is the use of vegetables extracts. Therefore, the objective of this study was to evaluate the potential effect and induction of resistance by the powder canola (*Brassica napus* L.) extracts to control powdery mildew on cucumber plants in a greenhouse. The experiment was conducted in a greenhouse, in two crops. The experimental delineation was completely randomized, with four repetitions in 4 x 5 factorial, with four powder canola extracts (maceration, infusion, alcoholic and aqueous) in five concentrations (0, 3, 6, 9 and 12%) applied 24 hours before pathogen inoculation and every 7 days thereafter for five weeks. Biochemical analysis of total protein, phenylalanine ammonia lyase and phenolic compounds were made in plant samples collected before the first application and 24, 72 and 144 hours after application of the extracts. Evaluations of incidence and disease severity were made weekly, prior to each application. There was interaction between extracts and concentrations for both incidence and severity of disease. The extracts powder canola maceration and aqueous controlled the disease severity with the increas-

ing of the concentrations of the extracts. The extracts obtained by maceration and aqueous showed increased enzyme FAL and phenols over long that were valued.

### 3.3 INTRODUÇÃO

O pepineiro (*Cucumis sativus* L.) é a segunda cucurbitácea mais plantada no mundo, superada apenas pela melancia. É uma planta sujeita a muitas doenças que podem tomar caráter epidêmico. Dentre as principais doenças está o oídio causado pelo fungo *Podosphaera fuliginea* (Schltdl.) U. Braun & S. Takam, encontrado principalmente em climas tropicais e subtropicais, sendo observado com maior frequência em cultivos protegidos (BRAUN & TAKAMATSU, 2000; STADINIK et al., 2001; KUROSAWA et al., 2005).

Os sinais do patógeno podem ser observados em quase toda a planta, como em folhas, talos, pecíolos e mesmo em gavinhas (MESSIAEN et al., 1995), sendo que folhas e caules são mais afetados. Os primeiros sintomas da doença ocorrem com o surgimento de colônias brancas pulverulentas, formadas por micélios, conidióforos e conídios, que podem coalescer o tecido causando o aparecimento de coloração acinzentada (SITTERLY, 1978).

O uso de produtos químicos tem sido a base do controle desta doença, todavia, o uso abusivo desses produtos, tanto em relação ao emprego de altas doses como o número excessivo de aplicações, tem aumentado a pressão de seleção e, conseqüente, surgimento de indivíduos resistentes, além da contaminação do agroecossistema (FERNANDES, 2000).

Nesse sentido, visando a busca por tecnologias de controle de doenças de plantas, consideradas ecologicamente e ambientalmente mais seguras, principalmente no contexto da agricultura orgânica, pesquisas têm sido impulsionadas com a utilização de alternativas eficientes que tenham como características, o baixo potencial de contaminação ao ambiente, e que não ofereça danos a saúde do aplicador e do consumidor.

Alguns métodos de controle alternativo como o controle biológico, indutores de resistência, resíduos orgânicos, fosfitos, leite de vaca e extratos de plantas, entre outros produtos, têm obtido resultados satisfatórios no controle de oídios (DAAYF, SCHMITT & BÉLANGER, 1995; BETTIOL, ASTIARRAGA & LUIZ, 1999; JAYME et al., 1999). A utilização de extratos de plantas para o controle, da referida doença, vem sendo muito estudada, devido a eficiência e ausência de impactos negativos ao ambiente.. Algumas plantas tem se destacado no controle de oídio como a *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai, (KONSTANTI-

NIDOU-DOLTSINIS, & SCHMITT, 1998); nim (*Azadirachta indica*), (CARNEIRO et al., 2007); cavalinha (*Equisetum spp.*) (FRANCISCO & MIO, 1998); mamão (*Carica papaya*) (Amadioha, 1998), cúrcuma (*Curcuma longa* L.), casca de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) (VECHET et al., 2009). Contudo, nem sempre essas espécies são fáceis de serem encontradas e com baixo custo de aquisição, devendo-se optar por espécies mais acessíveis.

Um das culturas que tem sido estudada nos últimos anos para o controle de diversos patógenos são as Brassicas, principalmente, por elas produzirem compostos oriundos do metabolismo secundário como terpenos, compostos fenólicos e compostos nitrogenados, que são produzidos com a finalidade de protegê-las do ataque de insetos, patógenos, entre outras funções na planta (TAIZ & ZIEGER, 2009). No entanto, as Brássicas em geral têm sido utilizadas com sucesso para reduzir as populações de patógenos habitantes do solo (BROWN & MORRA, 1997; KIRKEGAARD et al., 1998; SMOLINSKA & HORBOWICZ, 1999; MOCCELLIN, 2011; WEERAKOON et al., 2012; MAZZOLA et al., 2012), (MOJTAHEDI et al., 1993; BUSKOV et al., 2002; LIMA, 2006). Entretanto, o único trabalho encontrado na literatura visando o controle de doença na parte aérea de planta foi realizado por Passini et al. (1997) cujos autores testaram o óleo de canola no controle de oídio em rosas (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*), o qual proporcionou controle satisfatório desta doença.

Mais recentemente, foram realizados trabalhos utilizando extratos de canola visando o controle de podridões de frutos em pós-colheita, causada por *Monilinia fructicola* (Winter) Honey (BALZAN et al., 2011; FLORES et al., 2012), e também no controle de *Botrytis cinerea* em morango (CUZZI et al., 2012). O extrato aquoso de canola também foi testado na produção de metabólitos secundários, em cotilédones de soja (GUGINSKI et al., 2011), que apontaram que extratos desta Brássica podem ser responsáveis pela ativação do metabolismo secundário das plantas, promovendo a indução de resistência contra diversos fitopatógenos.

Além do efeito promissor no controle de doenças, a utilização da canola apresenta-se como método de controle mais barato se comparado aos fungicidas, de baixo risco de intoxicação humana e de poluição ao meio ambiente, facilmente disponível ao agricultor, podendo em muitos casos, ser obtida na própria propriedade agrícola e armazenada na forma de pó, de maneira mais prática e eficiente.

Com isso, objetivou-se avaliar o efeito de diferentes extratos de canola (*Brassica napus* L.) no controle de oídio em pepineiro e seu efeito elicitor na indução de resistência.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.4.1 Local e Obtenção dos Extratos de Canola

O cultivo da canola foi realizado com sementes híbridas da cultivar Ayola 4333, sendo a semeadura realizada na área experimental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – *Campus* Pato Branco. As plantas foram coletadas em pleno florescimento e realizada a secagem em estufa a 40 °C, por 72 horas. Toda a parte aérea das plantas foram trituradas, em moinho de facas tipo Willy (SOLAB) peneira 0,25 mm, e armazenado em potes de vidro transparente, na forma de pó, em geladeira a 4 °C até sua utilização.

Os quatro extratos à base de pó de canola foram obtidos por extração alcoólica, infusão, maceração (triturado em liquidificador e com tempo de armazenamento de 8 horas) e maceração sem tempo de reserva denominada para efeito de discussão como extrato aquoso (triturado em liquidificador e utilizado em seguida). Para todos os extratos obteve-se a concentração de 12 % e, a partir dela, foram preparadas as demais (3, 6 e 9 %).

##### 3.4.1.1 Extrato Alcoólico

Para a obtenção deste extrato 60 gramas de pó de canola foram imersos em 440 mL de álcool de cereais por 48 horas na ausência de luz, a temperatura ambiente. Após este período fez-se a filtração em papel filtro, medindo-se o volume total da solução obtido após a filtração. Na sequência foi removido o etanol presente na solução por meio do evaporador rotativo durante 1 hora e 30 minutos a temperatura de 60 °C. Posteriormente o resíduo da evaporação foi dissolvido em água destilada até completar o volume inicial da solução obtida após a filtração.

##### 3.4.1.2 Extrato Obtido sob Infusão

Utilizou-se 440 mL de água destilada a qual foi previamente aquecida até a temperatura de 100 °C, adicionando-a sobre 60 gramas de pó de canola e deixando-se em repouso por 20 minutos em recipiente fechado. Na sequência, foi feita a filtração em papel filtro.

#### 3.4.1.3 Extrato obtido por Maceração

Para a maceração 60 gramas de pó de canola foram misturadas a 440 mL de água fria destilada foram submetidas a agitação em liquidificador por 3 minutos. Após a agitação deixou-se em repouso por um período de 8 horas, realizou-se então a filtração em papel filtro separando-se a parte sólida da solução.

#### 3.4.1.4 Extrato Aquoso

Para o extrato aquoso seguiu-se a mesma metodologia descrita no item 3.4.4, no entanto, não houve o período de reserva.

### 3.4.2 Efeito dos extratos do pó de canola em oídio

O experimento foi realizado em casa de vegetação, por dois cultivos, em tempos distintos, seguindo-se a mesma metodologia. As sementes de pepino cultivar Caipira foram semeadas em células de bandeja de isopor, contendo substrato comercial Plantmax® e mantidas em casa de vegetação, livre do inóculo do patógeno causador da doença. Uma semana após a

germinação oito plântulas foram transferidas para vasos com 7,0 L de capacidade, com solo de mata corrigido para a cultura do pepineiro e, com 7 dias após o transplante iniciaram-se os tratamentos.

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, em fatorial 4 x 5 (forma de extração x concentração do extrato), com 4 repetições por tratamento. Os quatro níveis do fator forma de extração foram constituídos pelo extrato alcoólico, infusão, maceração e extrato aquoso e, as cinco concentrações de cada extrato testadas foram de 0, 3, 6, 9, e 12%. Cada extrato com suas respectivas concentrações foram aplicados primeiramente 24 horas antes de submeter o pepineiro ao inóculo do patógeno, posteriormente fez-se nova pulverização a cada 7 dias, por cinco semanas consecutivas. Com base nesse delineamento foram realizadas as avaliações de incidência e severidade do oídio. Para as avaliações bioquímicas acrescentou-se o fator tempo de coleta das amostras dos tecidos vegetais, realizadas nos tempos anterior a primeira aplicação dos extratos (tempo 0), 24 (tempo 1), 72 (tempo 2) e 144 horas depois da primeira aplicação (tempo 3). Estas coletas foram realizadas durante a primeira semana de condução do experimento.

A aplicação dos extratos de acordo com suas concentrações foi realizada manualmente por meio de borrifador com bico cônico, até o molhamento total das folhas. Na concentração de 0% de extrato, foram realizadas pulverizações com água destilada. As soluções foram preparadas no momento de cada aplicação, sempre no período da manhã.

Após 24 horas da aplicação dos extratos, foram distribuídos dez vasos com quatro plantas de pepino, com alta severidade da doença, entre as unidades experimentais e alternados de posição em intervalos de três dias.

A irrigação das plantas durante o ciclo da cultura foi realizada por meio de gotejamento, até atingir a capacidade de campo.

### 3.4.3 Avaliações da intensidade da doença

Para determinar a intensidade da doença foram realizadas avaliações semanais de incidência e severidade de oídio, durante cinco semanas consecutivas. A primeira avaliação foi realizada assim que surgiram os primeiros sintomas da doença e as posteriores antecedendo-se a cada aplicação dos extratos. Para avaliar a incidência foram utilizadas todas as folhas de

cada planta. Para quantificação da severidade da doença foi utilizada escala diagramática de oídio para cucurbitáceas descrita por Azevedo & Leite (1996), considerando as folhas dos terços inferiores e médios das plantas.

Após a obtenção dos resultados de incidência e severidade, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) por meio da fórmula descrita por Shaner & Finney (1977):

$$\sum_i^{n-1} \left[ \left( \frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i) \right]$$

em que,  $n$  é o número de avaliações,  $y_i$  é a severidade da doença na  $i$ -ésima avaliação,  $t_i$  é o tempo na  $i$ -ésima avaliação.

#### 3.4.4 Avaliações bioquímicas

Em cada vaso foi coletada uma planta, cortada rente ao solo, sendo esta, rapidamente acondicionada em papel alumínio e congelada para as avaliações bioquímicas de proteínas totais, da enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) e compostos fenólicos.

Para a análise de proteínas totais, as amostras de tecido foliar foram maceradas em almofariz com 10 mL de tampão fosfato 0,2 M (pH 7,5). Em seguida, o material foi centrifugado em 14000 rpm por 10 min a 4°C, coletando-se o sobrenadante. A quantificação do total de proteínas foi realizada pelo emprego do teste de Bradford (1976), fazendo-se leituras em espectrofotômetro, a 630 nm, tendo o soro de albumina bovina como padrão.

A quantificação da atividade da enzima FAL foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Rodrigues et al. (2006). Para a preparação do extrato pesou-se 1,0 g de cada amostra vegetal, transferiu-se 6,0 mL do tampão de extração (TRIS – HCl pH 8,0) para almofariz previamente gelado, e macerou-se a mistura completamente, a qual foi centrifugada em seguida a 6000 g por 10 min a 4 °C. Transferiu-se uma alíquota de 200 µL do mesmo e acrescentando-se 5 mL do tampão de extração. Para determinação da atividade enzimática FAL foi avaliada com base na diferença de absorbância resultante da conversão da fenilalanina em ácido trans-cinâmico (Hyodo et al., 1978). Para isto pipetou-se para tubos de ensaio, 1,5 mL de cada extrato enzimático, acrescentou-se 1,0 mL do tampão de extração e 0,5 mL de fenilalanina (49,6 mg/mL) ou água destilada na prova em "branco". A mistura foi incubada em ba-

nho maria a 40 °C por uma hora, interrompendo-se a reação com banho de gelo e procedendo-se as leituras espectrofotométricas a 290 nm.

Em relação aos compostos fenólicos totais, fez-se sua quantificação em duas etapas, seguindo o método adaptado de Bieleski & Turner (1966). Na primeira etapa realizou-se a extração dos fenóis totais, a partir da adição de 4 mL da solução metanol: clorofórmio: água (MCA), na relação 6:2,5:1,5 v/v, sobre o material vegetal, com trituração em almofariz à temperatura ambiente, seguida pela centrifugação a 6000 rpm por 20 min, coletando-se posteriormente o sobrenadante. Logo após, foi realizada nova extração do resíduo remanescente, adicionando-se 4 mL de MCA, centrifugando-o novamente a 6000 rpm por 20 min, adicionando-se o sobrenadante ao primeiro, formando-se o extrato. A esse extrato foi adicionado 1 mL de clorofórmio e 1,5 mL de água destilada, procedendo-se nova centrifugação a 6000 rpm por 15 min para separação das fases. Na segunda etapa, foi determinado o teor de fenóis totais por meio do método adaptado de Jennings (1991). A quantificação dos fenóis totais foi feita por meio de curva padrão de tirosina, sendo que as amostras foram preparadas a partir da retirada da alíquota de 0,5 mL da parte superior do tubo de extração dos fenóis, adicionando-se em seguida 0,5 mL de água destilada e 0,5 mL do reagente Folin-Ciocalteu. Depois de 15 min, foram adicionados 5 mL do reagente alcalino "A", preparado com carbonato de sódio a 2% em solução de hidróxido de sódio 0,1 N, permanecendo-se durante 50 minutos até a leitura da absorbância em 760 nm, em espectrofotômetro. Como controle, foi utilizada água destilada no mesmo volume do extrato vegetal. O resultado foi expresso em  $\text{mg g}^{-1}$  de tecido fresco.

#### 3.4.5 Análises dos Dados

Os dados foram analisados quanto a sua homogeneidade de variâncias pelo teste de Bartlett e a sua normalidade pelo teste de Lilliefors. Quando os dados não se apresentaram normais e/ou as variâncias não foram homogêneas, estes foram transformados por modelos matemáticos adequados. Atendidos os pressupostos matemáticos os dados foram submetidos a análise de variância ( $P \leq 0,05$ ) e as médias comparadas pelo teste de Duncan ( $P = 0,05$ ) pra variáveis qualitativas. Para variáveis quantitativas os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e quando significativo, as médias foram submetidas individualmente a análise de regressão a 5% de probabilidade pelo teste F, por meio do software estatístico SAS.

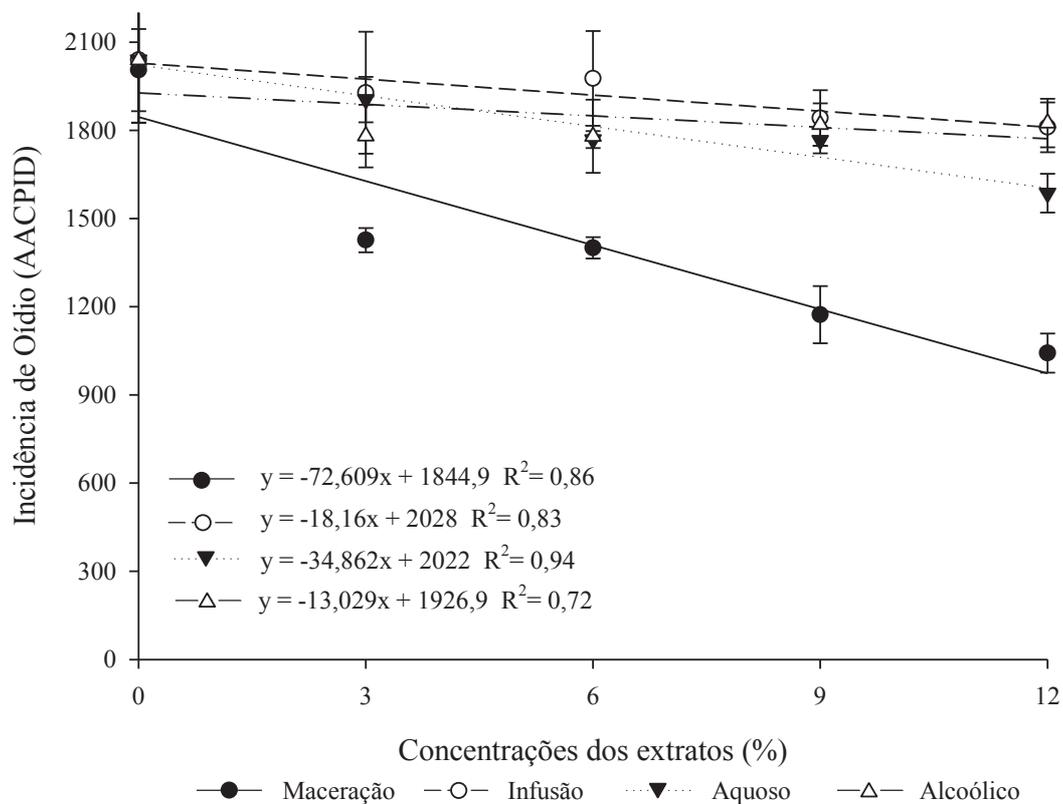
### 3.5 RESULTADOS

#### 3.5.1 Efeito dos extratos de pó de canola no controle do oídio

Para a área abaixo da curva de progresso da incidência da doença AACPID em pepino, os resultados do primeiro e segundo cultivo apresentaram interação significativa entre a concentração dos extratos e tipos de extração (Figuras 1 e 2).

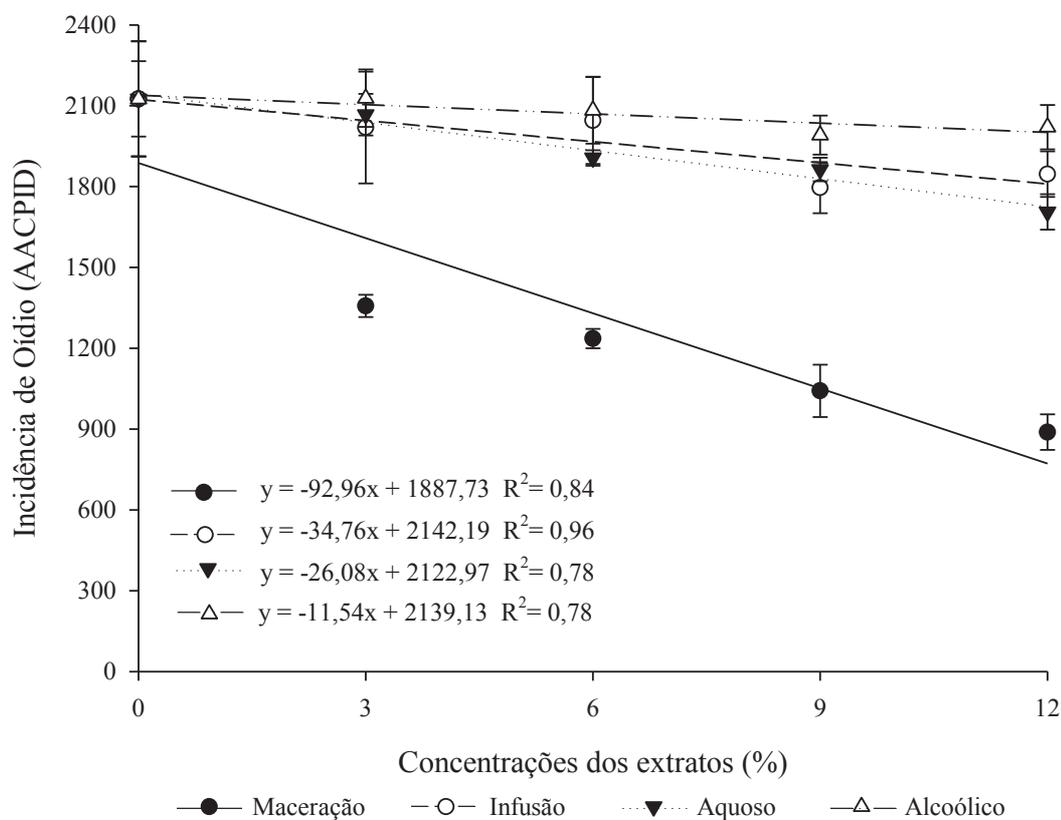
No primeiro cultivo observou-se comportamento linear decrescente para todos os extratos em função das concentrações pré estabelecidas no estudo, com coeficiente de determinação de  $r^2 = 0,86$ ;  $r^2 = 0,83$ ;  $r^2 = 0,94$ ;  $r^2 = 0,72$ , respectivamente para os extratos maceração, infusão, aquoso e alcoólico (Figura 1).

Para o extrato maceração o aumento das concentrações reduziu a incidência da doença diferindo dos demais extratos independente da concentração. Na maior concentração a utilização deste tratamento diminuiu a incidência da doença em 48%, enquanto o extrato aquoso apresentou diferença significativa dos extratos infusão e alcoólico, reduzindo a incidência da doença em 21%.



**Figura 1-** Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação das concentrações de 0, 3, 6, 9 e 12% dos extratos obtidos por maceração, infusão, aquoso e alcoólico. Primeiro cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.

No segundo cultivo, verificou-se o efeito linear para a incidência da doença em função da concentração dos extratos obtidos por maceração, infusão aquoso e alcoólico com coeficiente de determinação de  $r^2 = 0,84$ ;  $r^2 = 0,96$ ;  $r^2 = 0,78$   $r^2 = 0,78$ , respectivamente. Assim como no primeiro cultivo, o extrato maceração apresentou diferença significativa, em relação aos demais em todas as concentrações, reduzindo 58% a incidência da doença em relação ao tratamento testemunha. Os extratos preparados por meio da infusão e aquosos não diferiram entre si nas concentrações testadas, diferindo apenas em relação ao extrato alcoólico (Figura 2).



**Figura 2-** Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação das concentrações de 0, 3, 6, 9 e 12% dos extratos obtidos por maceração, infusão, aquoso e alcoólico. Segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.

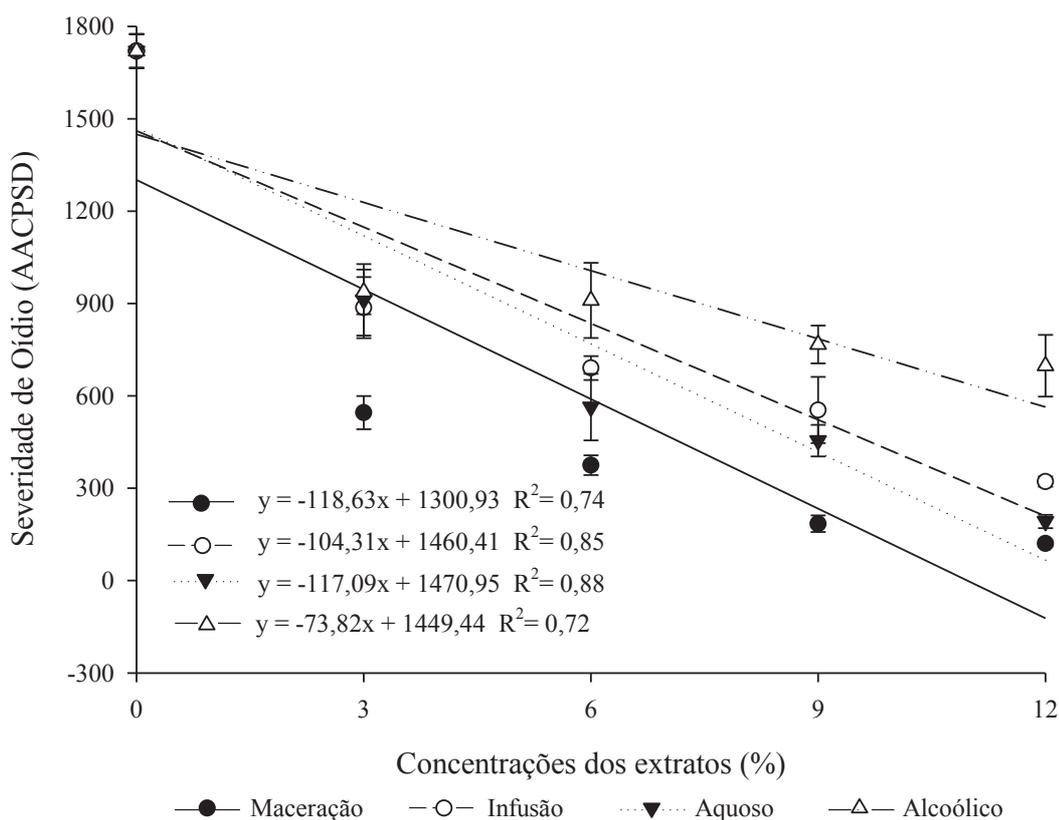
A área abaixo da curva de progresso da severidade doença (AACPSD) no primeiro e segundo cultivos apresentou interação significativa (forma de extração x concentração do extrato) a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0,05$ ). Nos dois cultivos observou-se que com o aumento das concentrações dos extratos houve uma redução da AACPSD, destacando-se como mais eficiente o extrato de maceração (Figura 3 e 4).

Com o aumento da concentração do extrato alcoólico, no primeiro cultivo, a AACPSD apresentou comportamento linear ( $r^2 = 0,72$ ). Na concentração de 3%, o controle da doença foi de 45% e na maior concentração de 59% (Figura 3). Essa mesma tendência de controle foi observada no segundo cultivo para este extrato, com comportamento linear ( $r^2 = 0,84$ ), com porcentagem de controle variando entre 25 a 41% com a concentração de 3 e 12%, respectivamente (Figura 4).

O extrato infusão, nos dois cultivos, diminuiu a AACPSD com o aumento da concentração, verificando-se comportamento linear ( $r^2 = 0,85$ ) para o primeiro e segundo cultivo ( $r^2 =$

0,92). A porcentagem de controle foi muito semelhante em ambos os cultivos, com todas as concentrações deste extrato, sendo para a de 12% obtido controle da doença de 81 e 80%, no primeiro e segundo cultivos, respectivamente, em comparação com a testemunha (Figuras 3 e 4).

Para o extrato aquoso, no primeiro e segundo cultivo, observou-se comportamento linear ( $r^2 = 0,88$ ) ( $r^2 = 0,95$ ), respectivamente, para a AACPSD em função do aumento na concentração do extrato. No primeiro cultivo a porcentagem de controle da doença obtida pelo extrato variou de 47 a 88% da menor para a maior concentração, respectivamente. No segundo cultivo, a redução da AACPSD foi de 38 a 89%, para as concentrações de 3 e 12% respectivamente (Figuras 3 e 4).

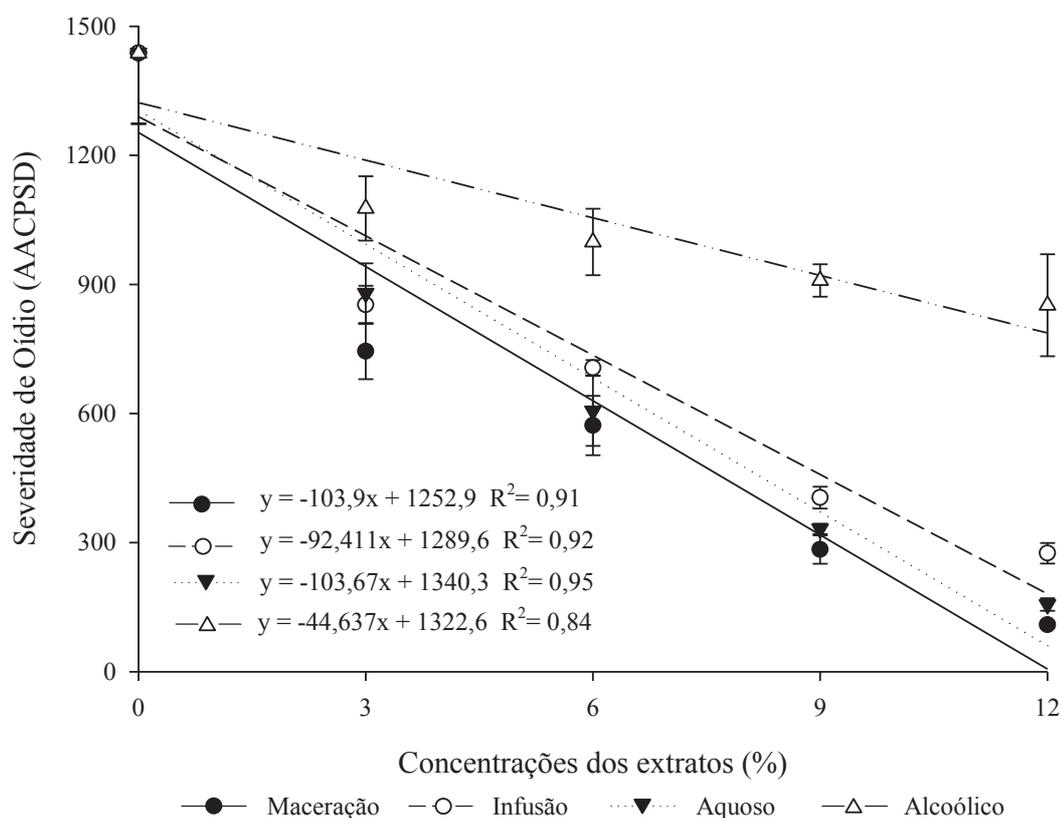


**Figura 3-** Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPSD) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação das concentrações de 0, 3, 6, 9 e 12% dos extratos obtidos por maceração, infusão, aquoso e alcoólico. Primeiro cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.

A AACPSD para o extrato oriundo da maceração diminuiu significativamente com aumento das concentrações deste, apresentando efeito linear ( $r^2 = 0,74$ ) e ( $r^2 = 0,91$ ) para pri-

meiro e segundo cultivo, respectivamente. A porcentagem de controle da doença foi de 68 e 48% para a menor concentração e de 93 e 92% para a maior, para o primeiro e segundo cultivos, respectivamente (Figuras 3 e 4).

Embora não tenha obtido o mesmo controle que a maceração, o extrato aquoso apresentou diferença significativa na AACPD para a severidade com a concentração de 12 % em relação aos extratos oriundos da infusão e alcoólico no primeiro e segundo cultivo. O extrato de infusão, por sua vez, diferiu do extrato alcoólico nos dois cultivos avaliados (Figuras 3 e 4).



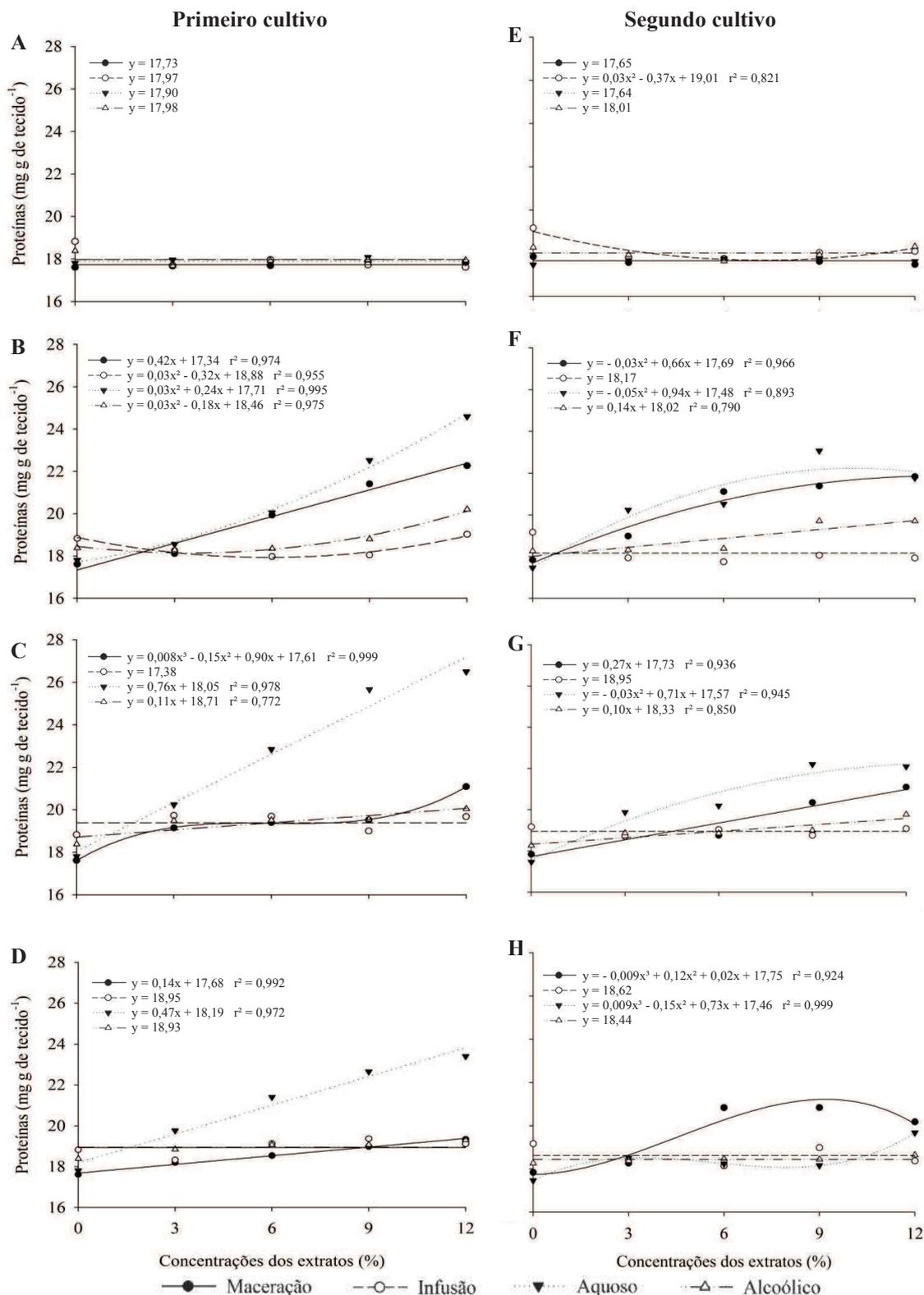
**Figura 4-** Área abaixo da curva de progresso (AACPD) da severidade de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação das concentrações de 0, 3, 6, 9 e 12% dos extratos obtidos por maceração, infusão, aquoso e alcoólico. Segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.

### 3.5.2 Efeito dos extratos do pó de canola nos teores de proteínas, de Fenilalanina amônia-liase (FAL) e de fenóis em pepineiro

O pó de canola, de acordo com sua forma de preparo (maceração, infusão, aquoso e alcoólico), em função das concentrações (0, 3, 6, 9 e 12%) e tempo de coleta (0, 1, 2 e 3) apresentou interação significativa entre esses três fatores avaliados no primeiro e segundo cultivos.

Para os teores protéicos das plantas de pepino, no primeiro cultivo, verificou-se aumento dos mesmos em quase todos os extratos utilizados e na maior concentração (12%), exceção apenas para aquele obtido por infusão no tempo 2 e no alcoólico no tempo 3, em que os valores foram constantes. O maior incremento observado foi com o extrato aquoso no tempo 2 na concentração de 12%, aumentando de 17,8 para 26,5 mg g de tecido<sup>-1</sup>. A maceração também teve destaque no aumento da quantidade de proteínas obtidas após o tempo 1, com efeito linear crescente com aumento das concentrações e com menor expressão para o tempo 2 e 3 (Figura 5).

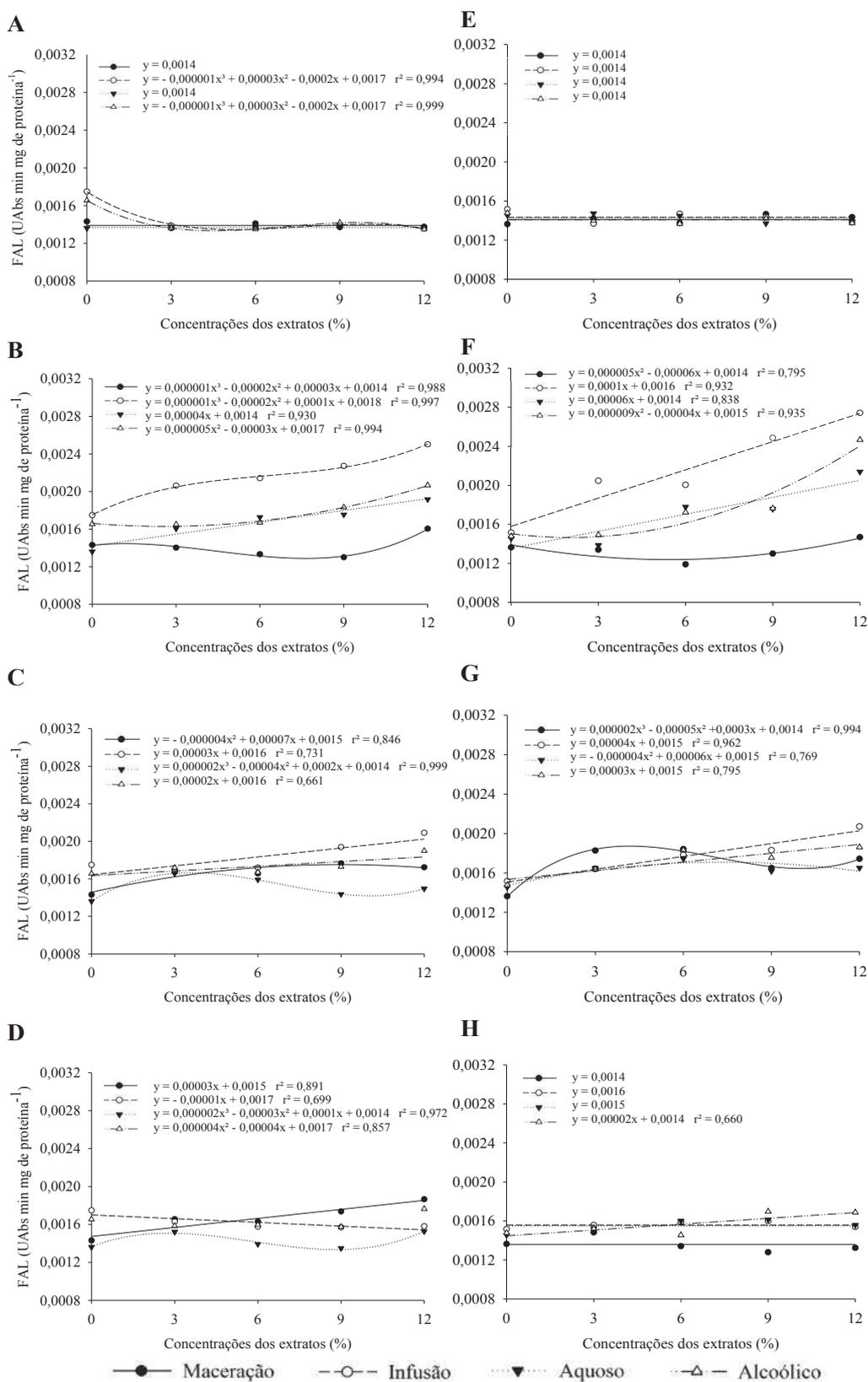
Os teores de proteínas no segundo cultivo, para o modo de preparo aquoso, seguiram a mesma tendência apresentada no primeiro cultivo, com aumento destes valores com o incremento das concentrações, nos tempos 1, 2 e 3. No entanto, os valores de proteínas apresentados com a aplicação do extrato preparado por meio da maceração apresentaram valores mais expressivos em relação ao primeiro cultivo, aumentando esses teores com as maiores concentrações nos tempos de coleta 1, 2 e 3. Por outro lado, o extrato obtido por infusão não apresentou indução nos teores de proteínas em nenhum dos tempos avaliados (Figura 5).



**Figura 5-** Teor de proteínas obtido das plantas de pepino, de acordo com a forma de extração, concentração de extrato e tempo de coleta, sendo para A e E - tempo 0 (anterior a primeira aplicação dos extratos), B e F - tempo 1 (24 horas após a primeira aplicação), C e G - tempo 2 (72 horas após a primeira aplicação), D e H - tempo 3 (144 horas após a primeira aplicação). Primeiro cultivo corresponde as letras A, B, C e D e segundo cultivo as letras E, F, G e H. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.

Em relação aos teores da FAL a infusão induziu aumento em sua produção nos tempos 1 e 2 com o incremento das concentrações, não seguindo o mesmo comportamento após o tempo 3 que apresentou efeito linear decrescente com aumento da concentração do extrato. Resultados semelhantes foram observados para o extrato alcoólico, embora o aumento tenha sido menor que o obtido com o extrato infusão. Por outro lado, quando se fez uso do extrato preparado por maceração verificou-se aumento da enzima FAL conforme aumentou a concentração nos tempos 2 e 3. O extrato aquoso apresentou indução dos teores da enzima FAL no tempo 1, mas não manteve esse incremento nos tempos subsequentes (Figura 6).

No segundo cultivo a atividade da enzima FAL apresentou aumento significativo, com acréscimo das concentrações, quando foi aplicado extrato oriundo da infusão nos tempos de coleta 1 e 2, confirmando os resultados obtidos no primeiro cultivo. A mesma tendência do primeiro cultivo também foi obtida com o extrato aquoso no segundo cultivo, tendo aumento significativo nos teores da enzima FAL, proporcional ao aumento das concentrações, no tempo 1. O extrato alcoólico aumentou significativamente os valores de FAL principalmente no tempo de coleta 1, bem como, nos tempos 2 e 3, mas de maneira menos significativa.



**Figura 6-** Fenilalanina Amonia-liase (FAL) obtida de plantas de pepino, de acordo com a forma de extração, concentração de extrato e tempo de coleta, sendo para A e E - tempo 0 (anterior a primeira aplicação dos extratos), B e F - tempo 1 (24 horas após a primeira aplicação), C e G- tempo 2 (72 horas após a primeira aplicação), D e H – tempo 3 (144 horas após a primeira aplicação). Primeiro cultivo corresponde as letras A, B, C e D e segundo cultivo as letras E, F, G e H. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.

Para os fenóis no primeiro cultivo observou-se efeito significativo apenas para o fator tempo de coleta do material vegetal (Tabela 1). Os teores de fenóis das avaliações feitas 24 e 72 horas após primeira aplicação dos extratos não diferiram significativamente, sendo que a primeira também não diferiu quando o tempo de coleta foi realizado após 144 horas da aplicação dos extratos. O tempo de coleta realizado anterior a primeira aplicação diferiu significativamente dos demais, apresentando menor valor de fenóis totais.

**Tabela 1-** Teores de fenóis obtidos de plantas de pepino em função de quatro tempos de coleta do material vegetal, anterior e após a primeira aplicação dos extratos de canola. Primeiro cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.

Tempo de coleta	Fenóis (mg gramas de tecido <sup>-1</sup> )
Anterior a primeira aplicação dos extratos (tempo 0)	0,44 c
24 hs Após aplicação dos extratos (tempo 1)	0,51 ab
72 hs Após aplicação dos extratos (tempo 2)	0,52 a
144 hs Após aplicação dos extratos (tempo 3)	0,49 b
C.V. (%)	2,28

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ ). C.V.(%) = Coeficiente de variação.

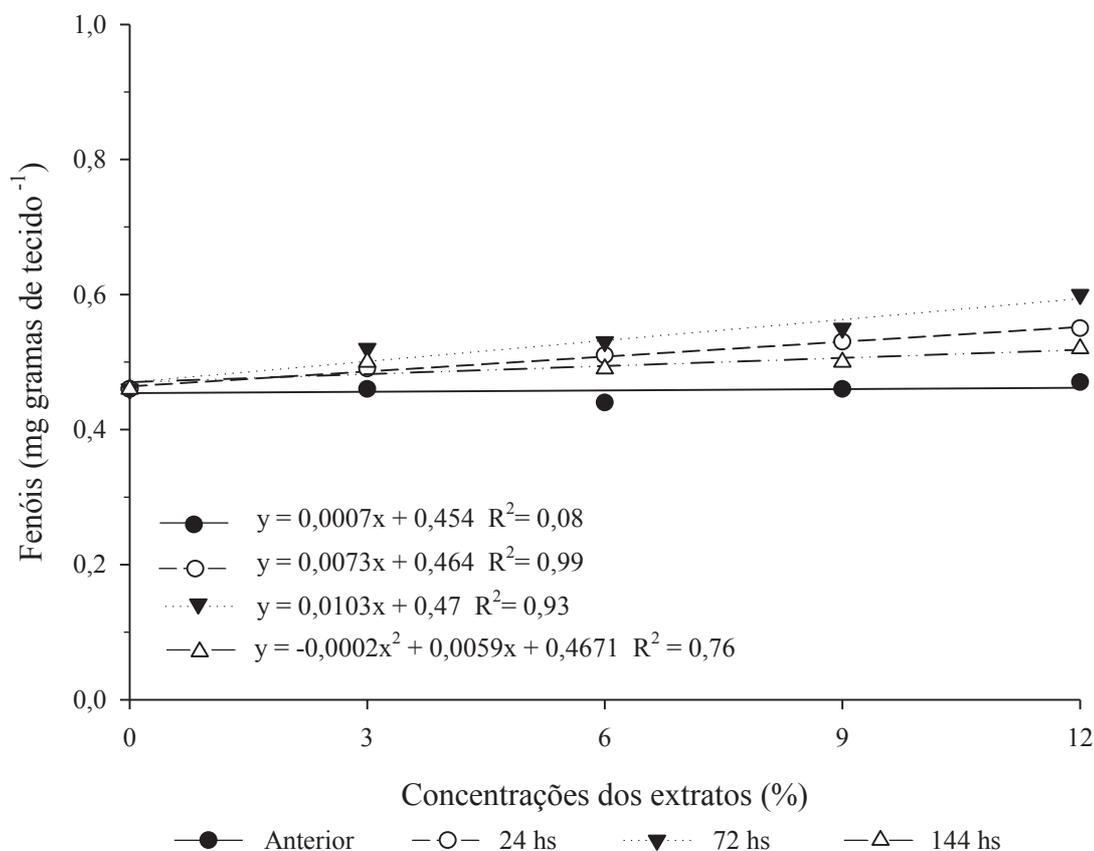
No segundo cultivo apenas as interações entre as diferentes formas de extração x tempo de coleta (Tabela 2) e entre o tempo de coleta x concentrações dos extratos (Figura 7) apresentaram interação significativa. Observa-se na tabela 2 que não houve diferença entre as formas de extração para os teores de fenóis totais, quando a avaliação foi realizada anterior a aplicação dos extratos, mas que, nas avaliações seguintes houve diferenças significativas entre as formas de extração do pó de canola. No tempo de coleta realizado após 24 horas da aplicação do extrato maceração, este induziu aumento nos teores de fenóis significativamente maiores que os encontrados para os demais extratos. Neste mesmo tempo de avaliação o extrato infusão induziu maiores teores de fenóis que o extrato alcoólico que, por sua vez, diferiu significativamente do extrato aquoso. Na avaliação realizada após 74 horas da aplicação dos extratos apenas observou-se diferenças significativas entre os extratos maceração e aquoso e na avaliação realizada após 144 horas da aplicação dos extratos não houve diferença entre os mesmos.

**Tabela 2-** Teores de fenóis obtidos de plantas de pepino em função de quatro tempos de coleta do material vegetal, anterior e após a aplicação dos extratos de canola. Segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2012.

Formas de Extração	Tempo de coleta do material vegetal			
	Tempo 0	Tempo 1	Tempo 2	Tempo 3
	Fenóis (mg gramas de tecido <sup>-1</sup> )			
Maceração	0,47 a	0,57 a	0,57 a	0,51 a
Infusão	0,46 a	0,55 b	0,55 ab	0,50 a
Alcoólico	0,46 a	0,50 c	0,55 ab	0,50 a
Aquoso	0,46 a	0,47 d	0,54 b	0,50 a
C. V. (%)	0,9			

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ ). C.V.(%) = Coeficiente de variação. Tempo 0 (anterior a primeira aplicação dos extratos), tempo 1 (24 horas após a primeira aplicação), tempo 2 (72 horas após a primeira aplicação), tempo 3 (144 horas após a primeira aplicação).

Observa-se na figura 7 que os teores de fenóis nos diferentes tempos de coleta aumentaram linearmente com o aumento das concentrações, com exceção apenas para o tempo de coleta anterior a aplicação, sendo que este não apresentou significância para nenhuma equação. Os maiores teores de fenóis totais foram observados quando a avaliação realizada 72 horas após a aplicação dos extratos, na concentração de 12%, ( $r^2 = 0,93$ ), seguida pela avaliação realizada 24 horas após ( $r^2 = 0,99$ ), e 144 horas após a aplicação dos extratos ( $r^2 = 0,76$ ).



**Figura 7-** Fenóis obtidos das plantas de pepino, de acordo com concentrações dos extratos e tempo de coleta: Anterior (anterior a primeira aplicação dos extratos); 24 hs (24 horas após a primeira aplicação); 72 hs (72 horas após a primeira aplicação); 144 hs (144 horas após a primeira aplicação). Segundo cultivo. Pato Branco -PR, 2012.

### 3.6 DISCUSSÃO

O aumento da concentração do extrato de pó de canola aplicado nas plantas de pepino apresentou redução significativa na incidência e severidade de oídio, mesmo com a presença contínua da alta pressão de inóculo do patógeno (Figuras 1, 2, 3 e 4). Esses resultados demonstram o potencial da canola no controle de doenças da parte aérea de plantas e, mais especificamente, no controle de oídio em pepineiro.

Até o presente momento o único trabalho encontrado com utilização de canola no controle de patógenos da parte aérea foi realizado por Passini et al. (1997) para oídio em rosas, utilizando-se JMS Stylet Oil, produto comercial à base de óleo de canola, diferenciando-se

do utilizado no presente trabalho que teve como base extratos oriundos de partes da planta. Uma das hipóteses para a eficácia apresentada pela canola para o controle de oídio em plantas de pepino é devido a sua capacidade de produzir compostos oriundos do metabolismo secundário, como terpenos, compostos fenólicos, compostos nitrogenados, e os glucosinolatos, que quando hidrolisados pela enzima mirosinase, resulta na produção de compostos voláteis de defesa (MITHEN, 2001; MORRA & BOREK, 2010). Dentre os compostos voláteis, os isotiocianatos são os que possuem maior ação de controle contra os fitopatógenos habitantes do solo (BROWN & MORRA, 1997). A esse composto atribui-se o controle de *Fusarium oxysporum* (RAMIREZ-VILLAPUDUA & MUNNECKE, 1986), *Macrophomina phaseolina* (LODHA, SHARMA & AGGARWAL, 1997), *Fusarium* sp. e *P. aphanidermathum* (FAN et al., 2005), *Rhizoctonia solani* (MOTISI et al., 2009), *P. aphanidermathum* (MOCCELLIN, 2011).

Como as aplicações dos extratos foram feitas na parte aérea, é possível que além do efeito dos compostos voláteis produzidos pelas brássicas, exista em sua composição algum outro composto resultante do metabolismo secundário que tenha ação direta sobre o patógeno. Além disso, considerando-se o efeito que esses extratos apresentaram principalmente na quantificação das proteínas e FAL (Figuras 5 e 6) é possível que os extratos de canola possam ter mais de um modo de ação, apresentando resposta conjunta na indução de resistência do pepineiro ao oídio e o efeito direto sobre o patógeno.

As curvas de progresso da doença para incidência e severidade indicaram que houve diferenças entre a eficiência dos extratos testados, principalmente para a incidência que foi reduzida com o aumento das concentrações em todos os extratos, com destaque para o extrato oriundo da maceração que possibilitou maior controle da doença. Esse extrato também se destacou entre os demais no controle da severidade.

A presença constante do patógeno em plantas dispostas aleatoriamente em meio ao experimento e a alta incidência da doença nas testemunhas, atuando continuamente como fontes primárias de inóculo, contribuíram para que a incidência da doença ao longo do experimento se mantivesse alta. Assim, os resultados obtidos demonstram que os extratos não foram tão eficientes para impedir que a doença iniciasse, mas, no entanto, foram eficientes para impedir que a doença se desenvolvesse nos tecidos do hospedeiro durante os 35 dias de avaliação do experimento, mesmo sob pressão de inóculo constante. Contudo, é provável que os danos causados pela incidência do fungo não atinjam a produção da cultura, dado que este patógeno, como fungo biotrófico, possui uma forma bastante evoluída de parasitismo, e seus efeitos prejudiciais são decorrentes, dentre outros fatores, da interferência do fungo no pro-

cesso de fotossíntese, por meio da diminuição da quantidade de luz que chega a superfície das folhas, o que seria mais afetado pela severidade da doença. A alta severidade com o passar do tempo causa amarelecimento e consequente destruição dos tecidos, fato esse que valoriza o controle do oídio obtido pelos extratos do pó de canola.

A maceração apresentou melhor controle da AACPD na severidade nos dois cultivos, mais de 90% de controle com a concentração de 12%, esse resultado ficou muito acima do obtido com controle químico encontrado por Faria et al. (2011), que observaram apenas 27,85% de controle da AACPD de oídio também em pepineiro em cultivo protegido, com uso do fungicida azoxistrobim, por outro lado, Liu et al. (2010) trabalhando como este mesmo patossistema, observaram maior controle com o fungicida químico Triadimefon (59,72 %), ainda assim, ficou abaixo do encontrado com a utilização deste extrato de pó de canola.

Os resultados obtidos com a concentração de 12 % para os extratos aquoso e maceração se assemelham ao obtido por Bettiol et al. (1999), com utilização de leite na concentração de 10 %, aplicado duas vezes por semana, e de 50%, aplicado uma vez por semana, para controle de *S. fuliginea* em abobrinha (*Cucurbita pepo*, cv. Caserta). Além, do controle obtido com concentração menor, o que demanda menor quantidade de produto, o controle de oídio com canola possui a vantagem de não usar um produto destinado diretamente à alimentação humana e também porque a matéria prima utilizada para o controle da doença pode ser cultivada com facilidade pelo próprio produtor e armazenada na forma de pó facilitando a disponibilidade e diminuindo os custos de aplicação.

O efeito obtido com a utilização do extrato maceração pode ser devido ao seu modo de preparo, haja vista que permaneceu por maior tempo em contato com a solução extratora, podendo ter resultado na maior diversidade e concentração de substâncias com ação fungitóxica, como os isoticianatos, e/ou elicitoras. Por outro lado, o processo de obtenção do extrato alcoólico e de infusão, que apresentaram menor controle da doença, pode ter eliminado parte dos compostos voláteis, durante a rotoevaporação e aquecimento da solução, respectivamente.

O comportamento obtido para FAL nos extratos vegetais pode-se comprovar em parte esta hipótese, uma vez que, praticamente em todos os extratos houve atividade da enzima FAL nos tempo 1 e 2, quando se fez uso de maceração e do extrato aquoso, e para fenóis no tempo 1 quando se fez uso da maceração, sendo estes extratos os que apresentaram maior eficiência para controle desta doença, conforme pode ser visto para incidência e severidade. Os compostos presentes nestes extratos podem ter desencadeado a transcrição do RNA mensageiro que codifica FAL, aumentando a quantidade desta enzima na planta e estimulando a síntese de compostos fenólicos (TAIZ & ZEIGER, 2009). Suspeita-se que quando se fez uso

de extratos oriundos da infusão e alcoólico, os mesmos foram eficientes em ativar rotas de defesa nas primeiras horas, mas não mantiveram essa mesma eficiência nas horas subsequentes, o que resultou menor controle do oídio em pepineiro. De acordo com Zhao et al. (2005), a FAL faz parte da classe de enzimas envolvidas com a formação de lignina, cujo acúmulo na parede celular atua como uma barreira à infecção microbiana e, também pode promover aumentos na concentração de produtos de oxidação de compostos fenólicos.

Os resultados obtidos quanto ao aumento da atividade da enzima FAL e compostos fenólicos, nos tempos 1 e 2, são semelhantes ao observado por Guleria & Kumar (2006). Estes autores avaliaram o efeito do extrato aquoso de folhas de nim (*Azadirachta indica* Juss.), na produção da enzima fenilalanina amônia-liase (FAL) e de compostos fenólicos, quando aplicado em gergelim (*Sesamum indicum* L.: Syn *S. orientale* L) para o controle de *Alternaria* (*Alternaria Sesami*), 24, 48, 72 e 92 horas após a aplicação. Os maiores valores observados para FAL e compostos fenólico estão compreendidos entre 24 e 72 horas após a aplicação do extrato.

Os extratos aquoso e maceração se destacaram também quanto ao aumento dos teores de proteínas. O extrato aquoso induziu a produção de proteínas nos tempo 1, 2 e 3 proporcionalmente ao aumento das concentrações. Já o extrato maceração induziu os teores de proteínas apenas nos tempos 1 e 2 e com a maior concentração (12 %). Sugere-se que o aumento nos níveis de proteínas estejam relacionados à síntese de proteínas-RPs, além de outras proteínas relacionadas à defesa vegetal. As proteínas  $\beta$ -1,3-glucanase e a quitinase, estão entre as proteínas-RPs mais pesquisadas, possuem atividade antimicrobiana hidrolítica, quebrando polímeros estruturais presentes na parede dos patógenos, sendo expressas na resistência sistêmica adquirida, além de estarem associadas à cascata de sinais do ácido salicílico, o qual é o sinalizador para a expressão dessas proteínas relacionadas à patogenicidade (Glazebrook, 2005).

A resistência a oídio induzida por extratos vegetais também foi confirmada em outros trabalhos, como o conduzido por Vechet et al. (2009) que testaram o efeito de indução de resistência de extratos de casca de carvalho, (*Quercus robur* L.), “giant knotweed” (*Reynoutria sachalinensis*), curcuma (*Curcuma longa* L.) e gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe ), comparados a indutores químicos, no controle de oídio em trigo. Todos os extratos apresentaram redução da doença, sendo que a severidade, avaliada 27 dias após a aplicação foi reduzida de 2 a 53%.

Embora, no estudo com pó de canola, o extrato alcoólico não tenha sido o que apresentou melhor eficiência de controle, Liu et al. (2010) avaliando esse extrato oriundo do pó de

22 plantas, com a metodologia de extração semelhante, para o controle de oídio (*Sphaerotheca fuliginea*) em pepineiro observaram que quatro plantas (*Euphorbia humifusa* Willd, *Robinia pseudoacacia* L., *Photinia serrulata* Lindl e *Cucurbita moschata*), quando comparadas as outras, apresentaram efeito preventivo, com controle de aproximadamente 80%. Os autores atribuíram esse controle a compostos do metabolismo secundário nas plantas que, entretanto, não foram identificados e que talvez tenham sido diferentes dos obtidos com a canola, que podem volatilizar mais facilmente com a rotoevaporação.

Os resultados obtidos neste trabalho, com os extratos de pó de canola, demonstraram que os preparados possuem diferenças conforme sua maneira de extração e que o potencial das substâncias elicitoras de indução estão relacionadas também com concentração das mesmas. Deve-se destacar ainda que o controle de oídio com o uso de canola sugere que possa haver controle semelhante em outros patossistemas incluindo fungos biotróficos. Além disso, a utilização do pó da canola com este fim apresenta algumas vantagens, como fácil obtenção, baixo custo, facilidade de manuseio, menor potencial de causar riscos à saúde dos trabalhadores rurais, consumidores e impacto ambiental, além de ser uma excelente alternativa, principalmente, para a agricultura familiar e cultivos orgânicos, baixando o custo de produção, agregando valor e melhorando a qualidade do produto.

### 3.7 CONCLUSÃO

Todas as formas de extrações do pó de canola em todas as suas concentrações diminuíram a severidade do oídio em pepineiro;

A maceração na maior concentração (12%) apresentou maior eficiência de controle da doença;

A indução de resistência foi confirmada como um dos mecanismos dos extratos para o controle da doença.

## 4. CAPÍTULO II – EXTRATO ETANÓLICO DE PRÓPOLIS NO CONTROLE DE OÍDIO EM PEPINEIRO

### 4.1 RESUMO

As cucurbitáceas são suscetíveis a diversas doenças, sendo o oídio, causada por *Podosphaera fuliginea*, a mais comum, quando em condições de alta umidade e temperatura amena. Uma das alternativas de controle dessa doença é o uso de produtos alternativos. A própolis, por possuir características antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, antiviral e antiprotozoária, pode ser uma alternativa de controle desta doença. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações do extrato etanólico de própolis, bem como a época e a concentração mais adequada para o controle do oídio na cultura do pepino. O experimento foi conduzido em casa de vegetação, em vasos de 7,0 L de capacidade contendo solo, no qual foram cultivadas quatro plantas de pepino cv. Caipira. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições, em fatorial 6x3, com seis concentrações (0; 0,5; 1; 2; 4 e 8 %) e três épocas de aplicação do extrato etanólico de própolis (24 horas antes da inoculação do patógeno, 24 horas após a inoculação e no aparecimento dos primeiros sintomas da doença). Foram realizadas cinco pulverizações ao longo do cultivo, uma a cada 7 dias, em cada época de aplicação. Foram realizadas avaliações semanais de incidência e severidade da doença. O experimento foi repetido por mais um cultivo, seguindo a mesma metodologia estabelecida no primeiro cultivo. Para incidência da doença ocorreu interação significativa entre os fatores (épocas x concentrações). Para AACPD da severidade não houve interação entre os fatores, entretanto, observou-se diferença significativa para os dois fatores separadamente. A AACPD da incidência foi menor na época de aplicação 24 horas após a inoculação do patógeno, principalmente na maior concentração. O extrato etanólico de própolis na concentração 8% controlou a severidade da doença em 31,33 e 43,68 % no primeiro e segundo cultivo, respectivamente. As aplicações das concentrações 24 horas antes e 24 horas após a inoculação do patógeno apresentaram menor AACPD para severidade, não diferindo significativamente entre si em ambos os cultivos. O extrato etanólico de própolis possui potencial para controle de oídio em pepineiro principalmente com a concentração 8% aplicado preventivamente.

### 4.2 ABSTRACT

The cucurbits are susceptible to various diseases, but powdery mildew, caused by *Podosphaera fuliginea*, is the most common, when in conditions of high humidity and mild temperatures. An alternative to control this disease is the use of alternative products. The própolis has antimicrobial, antifungal, antioxidant, antiviral and antiprotozoal characteristics, and due to this, it can be an alternative control this disease. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of different concentrations of alcoholic extract of propolis, as well as the most appropriate time and concentration to control powdery mildew in cucumber. The experiment was conducted in a greenhouse in pots of 7,0 L capacity containing soil,

where were grown four cucumber plants cv. Hillbilly. Used the completely randomized design with four replications in a 6x3 factorial, with six concentrations (0; 0,5; 1; 2; 4 and 8 %) and three times of application of ethanol extract of propolis (24 hours before pathogen inoculation 24 hours after inoculation and the appearance of the first symptoms of the disease). A total of five sprays over cultivation, one every 7 days, at each time of application. Assessments were performed weekly incidence and severity of disease. The experiment was repeated for another crop, following the same methodology established in the first crop. For disease incidence significant interaction between factors (time x concentration). To AUDPC severity there was no interaction between factors, however, there was a significant difference for the two factors separately. The AUDPC incidence was low at the time of application 24 hours after inoculation of the pathogen, primarily in higher concentration. The ethanol extract of propolis at 8 % concentration controlled the severity of disease in 31,33 and 43,68 % in the first and second crop, respectively. Applications of concentrations 24 hours before and 24 hours after inoculation of the pathogen had lower AUDPC for severity did not differ significantly from each other in both crops. The ethanol extract of propolis has potential for control of powdery mildew on cucumber mainly with 8 % concentration applied preventively.

### 4.3 INTRODUÇÃO

A cultura do pepino (*Cucumins sativus L.*) é suscetível a diversas doenças que causam a redução da produção, do valor econômico do fruto, e aumento do custo de produção. O oídio, causado pelo fungo *Podosphaera fuliginea* (Schltdl.) U. Braun & S. Takam (2000) é uma das principais doenças desta cultura, podendo causar severos danos ao cultivo, principalmente quando em condições de alta umidade e temperatura entre 18 e 22 °C (STADNIK, 2000). O pepino é bastante cultivado em ambientes protegidos, sendo que este ambiente favorece ainda mais o aparecimento da doença.

O oídio possui controle através da utilização de cultivares resistentes, aplicação de fungicidas, rotação de culturas, entre outros métodos (STADNIK, KOBORI & BETTIOL, 2001). Apesar disso, a utilização de cultivares resistentes não é obtida com facilidade. A resistência é controlada por um gene dominante *R* que só é expressado na presença de um gene recessivo *s*. No entanto, há ainda um gene inibidor *I* que dificulta a expressão da resistência completa (SHANMUGASUNDARAM, WILLIAMS & PETERSON, 1971; BEDENDO, 1995).

A utilização de fungicidas é o método de controle mais comum e apresenta bons níveis de controle. Os fungicidas protetores à base de enxofre eram muito utilizados, mas deixaram de ser os mais recomendados devido ao aparecimento de fitotoxidez de acordo com a

dosagem, a cultura ou cultivar que eram utilizadas (STADNIK, KOBORI & BETTIOL, 2001). No seu lugar, surgiram os fungicidas sistêmicos, que atualmente são mais eficientes e recomendados, porém, também são necessários alguns cuidados, já que os mesmos apresentam grande risco de desenvolver resistência porque possuem modos específicos de ação e sítios de atuação.

Desta forma, a utilização de fungicidas como único método de controle e o uso de doses altas, assim como, o número excessivo de aplicações, pode aumentar a pressão de seleção e conseqüentemente o surgimento de indivíduos resistentes, além da contaminação do agroecossistema.

O uso de controles alternativos mais eficientes, que tenham como características o baixo potencial de contaminação ao ambiente, e que não ofereçam danos à saúde do aplicador, têm sido objeto de estudos. Uma dessas alternativas é o uso de produtos como a própolis que possui características antimicrobianas, antifúngicas, antioxidantes, antiviral e antiprotzoária (PEREIRA et al., 2008).

A eficácia da utilização do extrato de própolis já foi comprovada no controle de bactérias *in vitro* (PRADO FILHO et al., 1962; MERESTA & MERESTA, 1985; VALDES et al., 1989; GRANGE & DAVEY, 1990), e dos fungos *Pestalotiopsis guipinii*, *Colletotrichum* sp. e *Colletotrichum gloeosporioides* (GIOVANELLI, 2008), *Hemileia vastatrix* e *Cercospora coffeicola* em cafeeiro (PEREIRA et al., 2008; ANDROCIOLI et al., 2012).

Santos et al. (2007), afirmam que há mais de 300 substâncias existentes na própolis, como ácidos carbônicos, ácidos graxos polinsaturados e o ácido linoleico. Ainda, numerosos compostos fenólicos especialmente os flavonoides e ácidos fenólicos, os quais junto com os ácidos carboxílicos modificados são componentes estratégicos na própolis, pois são responsáveis pela bioatividade contra vários microrganismos patogênicos (BURDOCK, 1998).

A presença de alguns nutrientes como zinco, cálcio, estrôncio, ferro, cobre, manganês e pequenas quantidades de vitaminas B1, B2, B6, C e E (SANTOS, 2007) presentes na própolis podem causar efeito de indução de resistência a doença. Segundo Pozza (1999), alguns nutrientes proporcionaram aumento da resistência a doenças nas folhas, contribuindo para a redução da severidade de doenças em cafeeiro. Sabe-se também, que o efeito de alguns micronutrientes estão relacionados a participação de algumas rotas metabólicas da síntese de fenóis e lignina, permitindo a indução de resistência da planta ao patógeno.

No entanto, ainda não se tem trabalhos realizados com a utilização de extrato de própolis para o controle de oídio em pepineiro, além disso, a maioria dos trabalhos, com a

utilização do extrato de própolis no controle de fitopatógenos, foram realizados em condições de laboratório e não tiveram comprovação de aplicabilidade à campo.

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar em cultivo protegido a eficiência de diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis e épocas de aplicação, visando o controle de oídio do pepineiro.

## 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.4.1 Preparo do Extrato Etanólico de Própolis

O extrato etanólico de própolis (EEP) foi preparado no Laboratório de Fitopatologia da UTFPR, Campus Pato Branco. A própolis na proporção de 30% foi misturada a 70% de álcool a 70° GL. A mistura foi acondicionada em um frasco escuro, fechado, mantendo-a em temperatura ambiente e em local protegido por dois meses, agitando-a diariamente. Ao término deste período o extrato foi separado da borra com a utilização de papel filtro. A concentração obtida foi considerada como 100% e a partir dela diluídas em água destilada as demais concentrações.

### 4.4.2 Efeito do Extrato Etanólico de Própolis Sobre o Oídio

O experimento foi conduzido na casa de vegetação da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Pato Branco. As plântulas de pepino cultivar ‘Caipira’ foram produzidas em células de bandeja de isopor, contendo substrato comercial Plantimax® e mantido sob condições ambientais em casa de vegetação, livre do inóculo do patógeno causador da doença. Duas semanas após a semeadura foram transplantadas 8 mudas de pepino em vasos com 7,0 L de capacidade, contendo solo de mata, corrigido conforme a necessidade da cultura. Após três semanas da semeadura foi realizado o raleio, permanecendo apenas quatro plantas por vaso.

A aplicação dos tratamentos foi realizada por meio de um borrifador com bico cônico, até o molhamento total das folhas, realizadas manualmente. Para a concentração 0% de extratos, foram realizadas pulverizações com água destilada. As diluições do extrato etanólico foram preparadas no momento de cada aplicação, sempre no período da manhã.

Após a primeira aplicação EEP em cada época fez-se nova pulverização a cada 7 dias, por cinco semanas consecutivas.

A inoculação foi realizada com a agitação de folhas com sintomas de oídio sobre as plantas. O alto potencial de inóculo do patógeno esteve presente no local do experimento por meio de dez vasos com quatro plantas de pepino, com alta severidade da doença, dispostos entre as unidades experimentais e alternados de posição em intervalos de três dias.

Os tratos culturais se resumiram a irrigação do solo durante o ciclo da cultura, por gotejamento, até a capacidade de campo.

O experimento foi repetido por mais um cultivo, obedecendo a mesma metodologia estabelecida no primeiro cultivo.

#### 4.4.3 Avaliações de Incidência e Severidade da Doença

Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, em fatorial 3 x 6 (época de aplicação x concentração do extrato), com 4 repetições. Os três níveis do fator época de aplicação foram constituídos por aplicações 24 horas antes da inoculação do patógeno, 24 horas após a inoculação do patógeno e no aparecimento dos primeiros sintomas da doença e, as seis concentrações do extrato testadas foram de 0; 0,5; 1; 2; 4 e 8 %.

As avaliações de incidência e severidade da doença foram realizadas semanalmente, sendo a primeira, realizada assim que surgiram os primeiros sintomas da doença e as posteriores antecedendo cada aplicação do EEP.

Para avaliar a incidência do oídio todas as folhas das plantas das unidades experimentais foram avaliadas, observando-se a presença ou não de sintomas da doença e sinais do patógeno nas folhas.

Para a severidade da doença foi utilizada uma escala diagramática de oídio para cucurbitáceas (Azevedo & Leite 1996). Foram avaliadas as folhas dos terços inferiores e mé-

dios das plantas. Após a obtenção dos resultados de severidade, foi calculada a área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD) por meio da fórmula descrita por Shaner & Finney (1977):

$$\sum_i^{n-1} \left[ \left( \frac{y_i + y_{i+1}}{2} \right) (t_{i+1} - t_i) \right]$$

em que,  $n$  é o número de avaliações,  $y_i$  é a severidade da doença na  $i$ -ésima avaliação,  $t_i$  é o tempo na  $i$ -ésima avaliação.

#### 4.4.4 Análises dos Dados

Os dados obtidos nos experimentos foram submetidos à análise de variância e quando observada a significância para a interação entre os fatores (épocas x concentrações), as médias foram submetidas individualmente a regressão a 5 % de probabilidade de erro tipo I pelo teste F. As análises foram realizadas com auxílio do software estatístico R (2010).

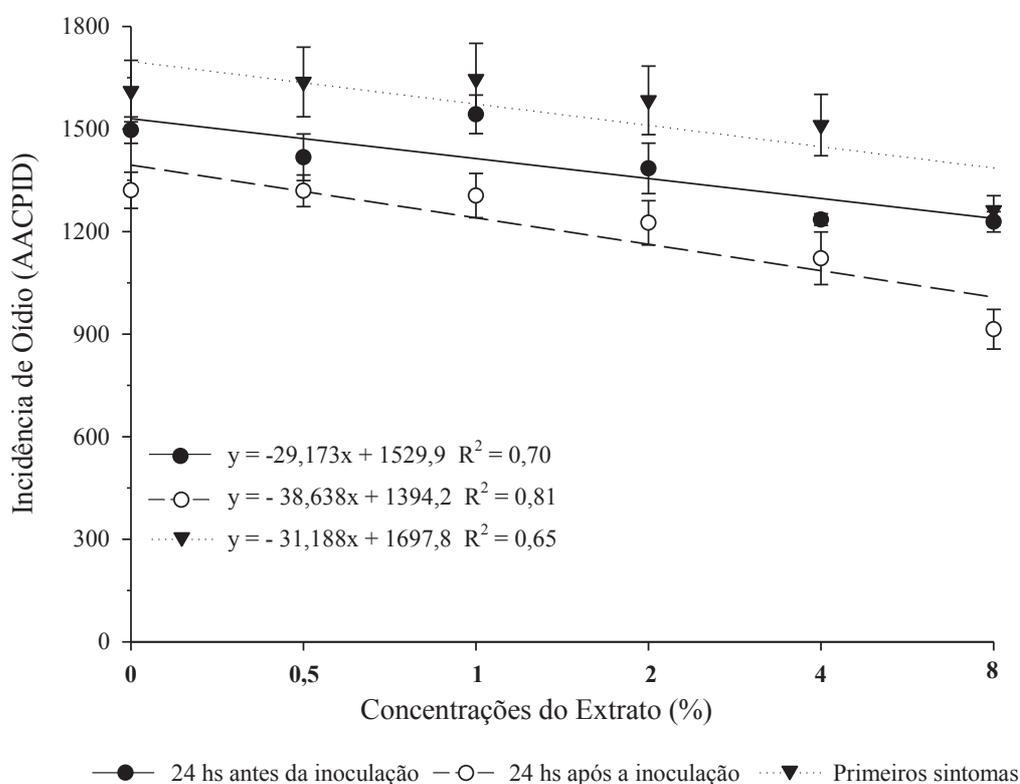
## 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As área abaixo da curva de progresso da doença da incidência (AACPID) no primeiro e segundo cultivo apresentaram interação significativa a 5 % de probabilidade de erro tipo I ( $P \leq 0,05$ ) entre os dois fatores estudados (épocas de aplicação x concentrações).

No primeiro cultivo ao analisar os dados da AACPID constatou-se que o aumento das concentrações do EEP não reduziu a incidência da doença em todas as épocas de aplicação. Houve aumento da incidência da doença com a concentração 1 % para as épocas 24 horas antes da inoculação e no aparecimento dos primeiros sintomas, assim como para a concentração 0,5 % aplicada no aparecimento dos primeiros sintomas (Figura 8).

A menor incidência para todas as épocas de aplicação foi observada na concentração de 8 % do EEP, em que o controle foi de 18, 31 e 22 %, para aplicações 24 horas antes da

inoculação, 24 horas após a inoculação e no aparecimento dos primeiros sintomas, respectivamente, sendo que para as três épocas o aumento das concentrações do EEP apresentou tendência linear decrescente com  $r^2 = 0,70$ ;  $r^2 = 0,81$  e  $r^2 = 0,65$ , para as respectivas épocas de aplicação. Os maiores valores de incidência da doença foram observados na aplicação a partir dos primeiros sintomas, além disso, esta época de aplicação apresentou valores superiores de incidência, em quase todas as concentrações, quando comparada as demais épocas de aplicação, com exceção apenas para a concentração de 8 %, que não diferiu da época de aplicação 24 horas antes da inoculação do patógeno (Figura 8).

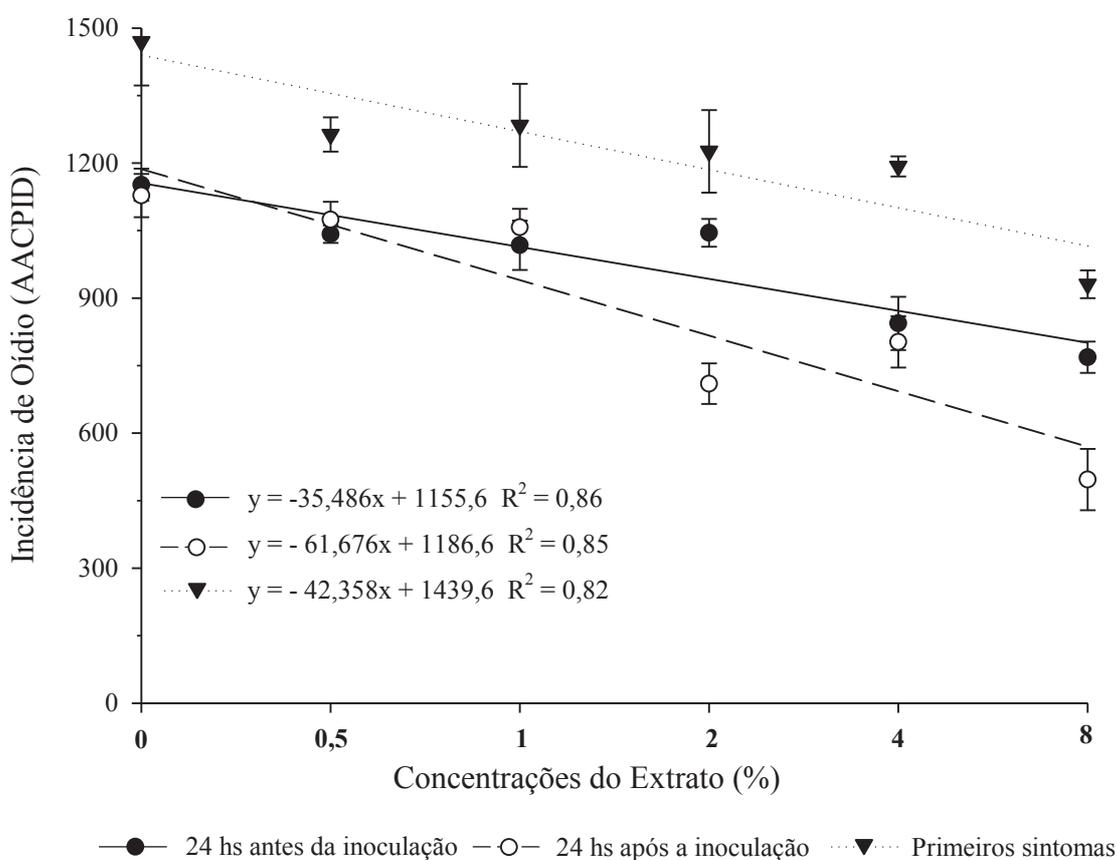


**Figura 8-** Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação de diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis (0; 0,5; 1; 2; 4 e 8%), em três épocas de aplicação (24 horas antes da inoculação do patógeno, 24 horas após a inoculação e no aparecimento dos primeiros sintomas da doença). Primeiro cultivo. UTFPR, Pato Branco - PR, 2011.

No segundo cultivo a incidência apresentou valores menores de AACPID em todas as épocas avaliadas, se comparadas ao primeiro cultivo, com tendência linear decrescente nas três épocas de aplicação, com  $r^2 = 0,86$ ;  $r^2 = 0,85$  e  $r^2 = 0,82$  para aplicações 24 horas antes da

inoculação, 24 horas após a inoculação e no aparecimento dos primeiros sintomas da doença, respectivamente (Figura 9).

A incidência do oídio foi maior quando a aplicação do EEP foi realizada no aparecimento dos primeiros sintomas da doença em comparação as demais épocas de aplicação das respectivas concentrações do EEP, com exceção da concentração 2% aplicada 24 horas antes da inoculação do patógeno (Figura 9).

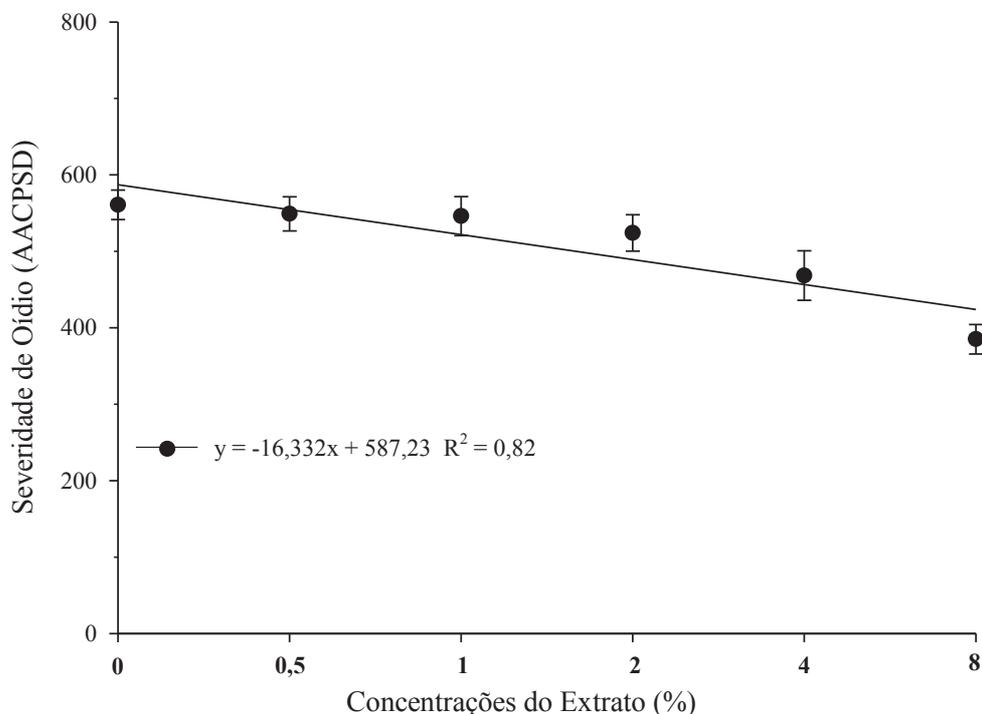


**Figura 9-** Área abaixo da curva de progresso da incidência (AACPID) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação de diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis (0; 0,5; 1; 2; 4 e 8%), em três épocas de aplicação (24 horas antes da inoculação do patógeno, 24 horas após a inoculação e no aparecimento dos primeiros sintomas da doença). Segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2011.

Na época de aplicação 24 horas após a inoculação as concentrações 2, 4 e 8% apresentaram redução da AACPID de 37, 29 e 56 % respectivamente. A concentração 8% também se destacou quando o EEP foi aplicado no aparecimento dos primeiros sintomas, com porcentagem de controle da incidência da doença de 37% em relação a testemunha e, 24 horas antes da inoculação, com controle de 33%.

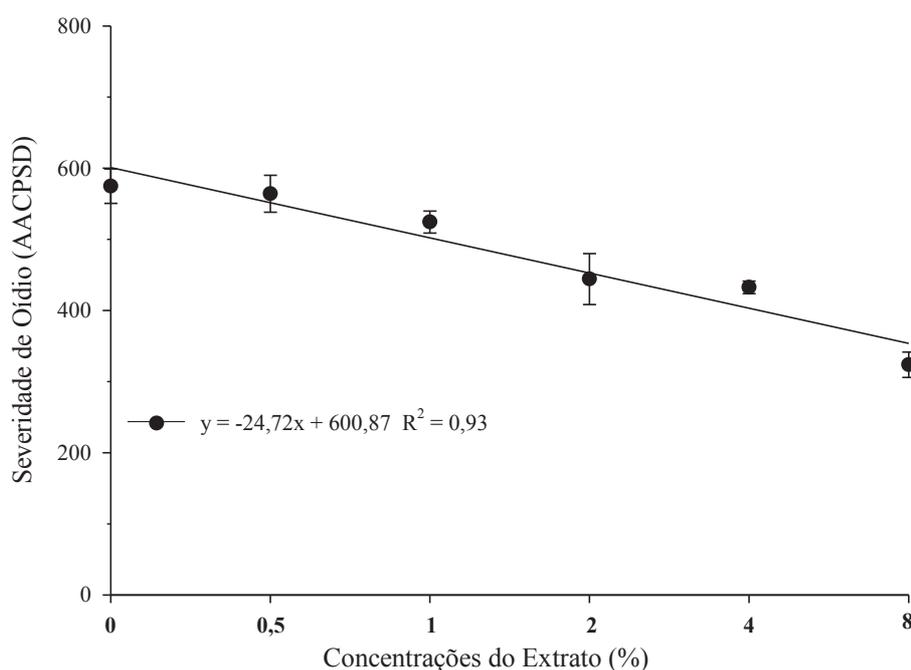
Para a AACPD da severidade do oídio em pepineiro os resultados do primeiro e segundo cultivos não apresentaram interação significativa entre os fatores concentrações do extrato e épocas de aplicação (Figura 10, 11 e Tabela 1). Sendo observada significância isoladamente para os dois fatores.

No primeiro cultivo, não houve grandes variações quanto à redução da AACPSD com o aumento das concentrações do extrato, com comportamento linear decrescente  $r^2 = 0,82$  (Figura 10). As concentrações 0,5; 1 e 2% não apresentaram controle da doença, esses resultados são semelhantes aos obtidos por Vieira & Andrade, (2009) que ao avaliarem, dentre outros produtos, extrato de própolis a 0,8 e 1,6 %, observaram que estas concentrações não diferiram significativamente da testemunha com água. A partir da concentração 4%, porém, a severidade diminuiu, apresentando porcentagem de controle de 16%. O maior controle da doença foi obtido com a aplicação da maior concentração, 8%, que apresentou controle de 31%.



**Figura 10-** Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPSD) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação de diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis (0; 0,5; 1; 2; 4 e 8%). Primeiro cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2011.

No segundo cultivo, a área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPSD) diminuiu de acordo com o aumento das concentrações, apresentando comportamento linear com  $r^2 = 0,93$  (Figura 11). Nesse cultivo, o controle da doença se deu a partir da concentração de 2 e 4%, que apresentaram controle da doença de 23 e 25 % respectivamente. Por outro lado, a concentração 8 % apresentou-se mais efetiva no controle da doença, com porcentagem e controle de 43 %.



**Figura 11-** Área abaixo da curva de progresso da severidade (AACPSD) de oídio (*Podosphaera fuliginea*) em pepineiro em função da aplicação de diferentes concentrações de extrato etanólico de própolis (0; 0,5; 1; 2; 4 e 8%). Segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2011.

Essa baixa porcentagem de controle da doença também foi observada por outros autores, como por Giovanelli (2008) que ao avaliar o efeito de EEP sobre *Colletotrichum gloeosporioides* em abacateiro, observou que no campo a eficácia no controle da doença não foi promissora, embora em estudos *in vitro* tenha observado que a própolis criou poros através das células das hifas. Isto pode indicar uma possível ruptura nos constituintes da parede celular, mesmo em hifas que não estavam em contato direto com o EEP. Segundo este autor a falta de eficácia no campo poderia estar ligada a fatores ambientais, mas a EEP mostrou ser eficaz em estudos *in vitro*, com atividade anti-fúngica.

Para as diferentes épocas de aplicação do EEP também foram observadas diferença significativa para a AACPD da severidade em ambos os cultivos. No primeiro cultivo, a aplicação do extrato no aparecimento dos primeiros sintomas apresentou a maior AACPD, diferindo significativamente da época de aplicação 24 horas após a inoculação do patógeno que apresentou a menor AACPD. Por sua vez, a aplicação do extrato 24 horas antes da inoculação não diferiu das demais épocas de aplicação (Tabela 1).

**Tabela 3-** Área abaixo da curva de progresso da severidade de oídio (*Podosphaera fuliginea*) (AACPSD) em pepineiro em função de três épocas de aplicação do extrato etanólico de própolis. Primeiro e segundo cultivo. UTFPR, Pato Branco -PR, 2011.

Tratamentos	AACPD (Severidade)	
	Primeiro cultivo	Segundo cultivo
24 horas antes inoculação	496,20 ab	468,37 a
24 horas após inoculação	447,14 a	318,87 a
Primeiros sintomas	561,66 b	647,85 b
CV%	14,27	21,04

Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ ).

No segundo cultivo, assim como no primeiro, as épocas de aplicação que apresentaram menor AACPD para severidade foram 24 horas após a inoculação e 24 horas antes da inoculação do patógeno, não diferindo significativamente entre si, entretanto, diferiram da aplicação no aparecimento dos primeiros sintomas.

Os resultados obtidos quanto a época de aplicação 24 horas antes da inoculação pode estar relacionado a formação de uma camada protetora evitando a penetração do fungo, promovendo a manutenção de um ambiente, mais favorável para as folhas resistirem à infecção do patógeno, além de permitir o acúmulo de substâncias antifúngicas na cutícula (POZZA et al. 2004).

Por outro lado, os resultados obtidos com a aplicação do extrato 24 horas após a inoculação do patógeno sugerem que seu efeito esteja relacionado a germinação dos esporos, assim como pode ter efeito direto sobre o estabelecimento do patógeno no tecido vegetal, devido a atuação do EEP sobre as estruturas fúngicas, principalmente na fase de infecção.

Entretanto, considerando que não houve diferença significativa na severidade da doença, em ambos os cultivos, quando o extrato foi aplicado 24 horas antes e após a

inoculação do patógeno, considera-se também o possível efeito de indução de resistência, muito embora, insuficiente para contribuir para que o controle da severidade da doença ultrapassasse 43 %, mesmo na maior concentração, já que de acordo com Guginski et al. (2011) verificando o potencial do extrato não alcoólico de própolis em induzir fitoalexinas em cotilédones de soja (*Glycine max*), nas concentrações 0; 0,5; 1; 2; 4 e 8% constataram capacidade de indução da fitoalexina gliceolina, respondendo proporcionalmente ao aumento das concentrações.

Contudo, a presença das substâncias fenólicas, especialmente os flavonóides e ácidos fenólicos, os quais junto com os ácidos carboxílicos modificados são componentes estratégicos na própolis, pois são responsáveis pela bioatividade contra vários microrganismos patogênicos (BURDOCK, 1998), variam de um local para outro, assim, o extrato originado em diferentes locais tem ação diferenciada sobre cada patossistema, como já comprovada em alguns estudos (STEPANOVIC et al., 2003; GAREDEW et al., 2004; UZEL et al., 2005). Sendo assim, os resultados obtidos demonstram que provavelmente há presença desses compostos no EEP utilizado, porém em baixas concentrações, não sendo suficientes para controlar a doença acima de 50%, nas concentrações utilizadas neste estudo.

É possível que com o aumento da concentração do extrato de própolis utilizado obtenha-se maior controle da doença, pois Moraes et al. (2011), ao testarem a concentração de 10% de extrato de própolis, para controle de oídio em tomate, constataram maior controle da doença quando comparado ao fungicida Tebuconazole. Assim como, por Stompor-Chrzan (2004) que ao tratarem sementes de feijão nas concentrações de 4 e 10% de EEP, visando o controle de patógenos causadores de tombamento, constatou que o EEP na concentração de 10% foi o mais eficiente na inibição de infecções fúngicas e resultou em plantas visualmente saudáveis.

Embora haja o possível aumento no controle de fitopatógenos com concentrações de EEP maiores que as utilizadas neste estudo, devem ser levadas em consideração o custo das aplicações, já que o extrato de própolis é um produto relativamente caro.

#### 4.6 CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste estudo conclui-se que o EEP controla preventivamente o oídio em pepineiro.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo demonstrou novas possibilidades de controle de fitopatógenos causadores de doenças de parte aérea e, mais especificamente, de oídio em pepineiro. Através do uso de extratos de pó de canola o produtor poderá obter controle efetivo, com baixo custo e de fácil obtenção, uma vez que essa cultura está sendo cada vez mais utilizada como uma opção na rotação de culturas de inverno, além disso, o armazenamento na forma de pó proporciona a utilização durante as demais épocas do ano.

Por outro lado, a utilização do extrato etanólico de própolis pode ser mais uma opção de controle de baixo custo, quando disponível na propriedade, entretanto, neste caso deve ser feito novos estudos, com própolis coletados de diferentes locais, concentrações maiores, além de estudos que demonstrem qual o modo de ação deste composto.

Contudo, estes estudos vêm a somar com os diversos trabalhos realizados com controle alternativo, como mais uma opção aos produtores familiares ou produtores orgânicos. No entanto, também pode ser utilizado na produção convencional, haja vista, a facilidade de obtenção e principalmente o alto índice de controle obtido especificamente com a utilização da canola.

Tanto na utilização de canola como na utilização de própolis ainda há muito que ser pesquisado. Para trabalhos futuros, sugere-se realizar estudos com utilização de diferentes partes da planta de canola e também uma análise cromatográfica de cada extrato utilizado neste experimento, para que seja possível identificar quais compostos podem estar relacionados ao controle da doença. Além disso, sugere-se estudos com outros patógenos da parte aérea tanto com a utilização de própolis como de extratos de canola.

## REFERÊNCIAS

AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. Academic Press, ed. 4. San Diego, 1997.

AL-RADDAD, A. M. Effect of powdery mildew on squash yield. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 32, p. 44-47, 1993.

ALMEIDA, D. A. **Cultura do Pepino: *Cucumis sativus***. Manual de Culturas Hortícolas, v. 2, ed. Presença, 2006.

AMADIOHA, A. C. Control of powdery mildew in pepper (*Capsicum annum* L.) by leaf extracts of papaya (*Carica papaya* L.). **Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants**, v. 6, p. 41-47, 1998.

ANDROCIOLI, H. G.; JÚNIOR, A. de O. M.; HOSHINO, A. T. & ANDROCIOLI, L. G. Produtos alternativos no controle da *Hemileia vastatrix* (Berkeley & Broome) e *Cercospora coffeicola* (Berkeley & Cooke) em cafeeiros. **Coffee Science**, v. 7, p. 187-197, 2012.

BALZAN, L.; SANTOS, I. dos; CITADIN, I.; GUGINSKI, C. A. Extratos vegetais e fosfito de potássio no controle da podridão parda do pêssego. In: **Anais do 44º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**. Bento Gonçalves, RS. 2011.

BANKOVA, V. S. Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. **Apidologie**, v. 31, p. 3-15, 2000.

BANKOVA, V. S.; BOUDOUROVA-KRASTEVA, G.; POPOV, S.; SFORCIN, J. M. & FUNARI, S. R. C. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. **Apidologie**, v. 29, p. 361-367, 1998.

BARDIN, M.; NICOT, P. C.; NORMAN, P. & LEMAIRE, J. M. Virulence variation and DNA polymorphism in *Sphaerotheca fuliginea*, causal agent of powdery mildew of cucurbits. **European Journal of Plant Pathology**, v. 103, p. 545-554, 1997.

BARDIN, M. C.; DOGIMON, T. P.; NICOT, P. & PITRAT, M. Genetic analysis of resistance of melon line PI 124112 to *Sphaerotheca fuliginea* and *Erysiphe cichoracearum* studied in recombinant inbred lines. **Acta Horticulture**, v. 492, p. 163-168, 1999.

BARROS, F. C.; SAGATA, E.; FERREIRA, L. C. de C. & JULIATTI, F. C. Induction of resistance in plants against phytopathogens. **Bioscience Journal**, v. 26, p. 231-239, 2010.

BARI, R. & JONES, J. Role of plant hormones in plant defence responses. **Plant Molecular Biology**, v. 69, p. 473-488, 2009.

BASIM, E.; BASIM, H. & ÖZCAN, M. Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. **Journal of Food Engineering**, v. 77, p. 992-996, 2006.

BEDENDO, I. P. Oídios. In: BERGAMIN FILHO, A.; KIMATI, H. & AMORIM, L. **Manual de Fitopatologia - Volume 1: Princípios e Conceitos**. ed. Agronômica Ceres, São Paulo-SP, v.1, 1995.

BETTIOL, W. & ASTIARRAGA, B. D. Controle de *Sphaerotheca fuliginea* em abobrinha com resíduo da fermentação glutâmica do melão e produto lácteo fermentado. **Fitopatologia Brasileira**, v. 23, p. 431-435, 1998.

BETTIOL, W.; ASTIARRAGA, B. D. & LUIZ, A. J. B. Effectiveness of cow's milk against zucchini squash powdery mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) in greenhouse conditions. **Crop Protection**, v.18, p. 489-492, 1999.

BIELESKI, R. L. & TURNER, N. A. Separation and estimation of amino acids in crude plant extracts by thin-layered electrophoresis and chromatography. **Analytical Biochemistry**, v.17, p. 278-293, 1966.

BLOK, W. J.; LAMERS, J. G.; TERMORSHUIZEN A. J. & BOLLEN, G. J. Control of soilborne plant pathogens by incorporating fresh organic amendments followed by tarping. **Phytopathology**, v. 90 p. 253-259, 2000.

BOREK, V.; MORRA, M. J.; BROWN, P. D. & McCAFFREY, J. P. Transformation of the glucosinolate-derived allelochemicals allyl isothiocyanate and allyl nitrile in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 43, p. 1935-1940, 1995.

BRAUN, U. **The Powdery Mildews (Erysiphales) of Europe**. New York, 1995.

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**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAUN, U. & TAKAMATSU, S. Phylogeny of *Erysiphe*, *Microsphaera*, *Uncinula* (Erysipheae) and *Cystotheca*, *Podosphaera*, *Sphaerotheca* (Cystothecae) inferred from rDNA its sequences-some taxonomic consequences. **Schlechtendalia**, v. 4, p. 1-33, 2000.

BROWN, P. D. & MORRA, M. J. Control of soil-borne plant pest using glucosinolate-containing plants. **Advances in Agronomy**, v. 61, p. 167-231, 1997.

BURDOCK, G. A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. **Food and Chemical Toxicology**, v. 36, p. 347-363, 1998.

BUSKOV, S.; SERRA, B.; ROSA, E.; SORENSEN, H. & SORENSEN, J.C. Effects of intact glucosinolates and products produced from glucosinolates in myrosinase catalyzed hydrolysis on the potato cyst nematode (*Globodera rostochiensis* cv. Woll). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 690-695, 2002.

CARDOSO, A. I. I. & SILVA, N. da. Avaliação de híbridos de pepino tipo japonês sob ambiente protegido em duas épocas de cultivo. **Horticultura Brasileira**, v. 21, p. 171-176, 2003.

CARNEIRO, S. M. de T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. da C. & GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathologica**, v. 33, p. 34-39, 2007.

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

CUZZI, C.; SANTOS, I.; MAZARO, S. M.; SONEGO, E. T. & VILANI, A. Efeito de Preparados de canola no controle do mofo cinzento em morangos pós-colheita e nos parâmetros físicos-químicos dos frutos. In: **I Congresso Brasileiro de Patologia de frutos Pós-Colheita**, 2012, Recife. I CBPPC, 2012.

DAAYF, F.; SCHMITT, A. & BÉLANGER, R. R. The effects of plant extracts of *Reynoutria sachalinensis* on powdery mildew and leaf physiology of long English cucumber. **Plant Disease**, v. 79, p. 577-580, 1995.

DANNER, M. A.; SASSO, S. A. Z.; MEDEIROS, J. G. S.; MARCHESE, J. A. & MAZARO, S. M. Indução de resistência a podridão-parda em pêssegos pelo uso de eliciadores em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 43, p. 793-799, 2008.

DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V. R.; VAN POECKE, R. M. P.; VAN PELT, J. A.; POZO, M. J.; MUELLER, M. J.; BUCHALA, A. J.; METRAUX, J. P.; VAN LOON, L. C. & DICKE, M. Signal signature and transcriptome changes of *Arabidopsis* during pathogen and insect attack. **Molecular Plant Microbe Interact**, v. 18, p. 923-937, 2005.

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

FAN, C. M.; XIONG, P. Q.; JI, G. H. & HE, Y. Potential biofumigation effects of *brassica oleracea* var. *caulorapa* on growth of fungi. **Journal Phytopathology**, v. 156, p. 321-325, 2005.

FARRÉ, R.; FRASQUET, I. & SÁNCHEZ A. El própolis y la salud: Propolis and human health. **Ars Pharmaceutica**, v. 45, p. 21-43, 2004.

FARIA, G. S.; VIDA, J. B.; VERZIGNASSI, J. R.; TESSMANN, D. J.; LORENZETTI, E. R. & GASPAROTTO, F. Controle de oídio em pepino parternocárpico com produtos alternativos em cultivo protegido. **Summa Phytopathologica**, v. 37, p. 205-207, 2011.

FERNANDES, M. C. A. Emprego de métodos alternativos de controle de pragas e doenças na olericultura. **Horticultura Brasileira**, v. 18, Suplemento, p. 112-113, 2000.

FILLHO, M. M.; GUIMARÃES, J. A.; REYES C. P.; CARVALHO, A. D. F. de; AMARO, G. B.; LOPES, J. F. & LIZ, R. S. de. Recomendações técnicas para o controle de pragas do pepino. **Circular técnica**, 109. Brasília, DF, 2012.

FLORES, M. F.; CITADIN, I.; SANTOS, I.; GUGINSKI, C. A. & HENK, D. Diferentes tipos de preparo de extratos de Brássicas no controle de *Monilinia fructicola* em Pêssego. In: **I Congresso Brasileiro de Patologia Pós-colheita**, Recife, I CBPPC, 2012.

FONTES, P. C. R. & PUIATTI, M. Cultura do pepino. In.: **Olericultura: teoria e prática**. Viçosa, MG. 2005.

FRANCISCO, D. P. & MIO, L. L. M. Eficiência de óleos e extratos de plantas no controle de Oídio (*Sphaerotheca fuliginea*) em pepino. **Summa Phytopathologica**. v. 24, p. 50- 59, 1998.

GAREDEW, A.; SCHMOLZ, E. & LAMPRECHT, I. Microbiological and calorimetric investigations on the antimicrobial actions of different propolis extracts: an in vitro approach. **Thermochimica Acta**. v. 422, p. 115-124, 2004.

GIMSING, A. L.; SORENSEN, J. C.; TOVGAARD, L.; JORGENSEN, A. M. F. & HANSEN, H. C. B. Degradation kinetics of glucosinolates in soil. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 25, p. 2038-2044, 2006.

GIMSING, A. L. & KIRKEGAARD, J. A. Glucosinolate and isothiocyanate concentration in soil following incorporation of *Brassica* biofumigants. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 8, p. 2255-2264, 2006.

GIOVANELLI, L. **Evaluation of an Ethanolic Extract of Propolis as a Potential Pre- and Post-Harvest Fungicide for 'Fuerte' Avocado (*Persea americana Mill.*) Fruits and Orchards**. 2008. p. 127. Dissertação (Mestrado) Faculdade de ciências da University of the Witwatersrand. Johannesburg, 2008.

GLAZEBROOK, J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.43, p.205-227. 2005.

GÓMEZ-CARAVACA, A. M., GÓMEZ-ROMERO, M.; ARRÁEZ-ROMÁN, D.; SEGURA-CARRETERO, A. & FERNANDEZ-GUTIÉRREZ, A. Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. **Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p. 1220-1234, 2006.

GRANGE, J. M. & DAVEY, R. W. Antibacterial properties of propolis. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v. 83, p. 159-160, 1990.

GUGINSKI, C. A.; SANTOS, I. dos; OLIVEIRA, M. de C.; ARRUDA, J. H. & ROCHA, K. F. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a doses de extrato não alcoólico de própolis. In: **Anais do 44º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Bento Gonçalves, RS. 2011.

GUGINSKI, C. A.; SANTOS, I. dos; OLIVEIRA, M. C.; PAZOLINI, K. & HECK, D. W. Indução de fitoalexinas em cotilédones de soja em resposta a extrato de canola (*Brassicana-pus L.*). In: **Anais do 44º Congresso Brasileiro de Fitopatologia**, Bento Gonçalves, RS. 2011.

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

HALKIER, B. A. & GERSHENZON, J. Biology and biochemistry of glucosinolates. **Annual Reviews Plant Biology**, v. 57, p. 303-333, 2006.

HEGAZI, A. G. & EL-HADY, F. K. A. Influence of Egyptian propolis as antifungal agent. **Egyptian Journal of Veterinary Science**, v. 36, p. 45-49, 2002.

HORA, R. C. da. **Avaliação de pepineiro enxertado em diferentes ambientes**. 2006. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrônomicas da Unesp. Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Horticultura). Botucatu-SP, 2006.

HYODO, H.; KURODA, H. & YANG, S.F. Induction of phenylalanine ammonia-lyase and increase in phenolics in lettuce leaves in relation to the development of russet spotting caused by ethylene. *Plant Physiology* 62:31-35. 1978.

JAYME, B. O.; CASTRO, C. S.; RIOS, G. P. & NEVES, B. P. Eficiência de produtos de origem natural no controle de oídio (*Erysiphe polygoni*) do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v. 24, 1999.

JENNINGS, A. C. The determination aldehydic phenolic compounds in extracts of plant tissues. **Analytical Biochemistry**, v. 118, p. 396-398, 1991.

JOSEPH, B.; DAR, M. A. & KUMAR, V. Bioefficacy of plant extracts to control *Fusarium solani* f. sp. melongenae incitant of brinjal wilt global. **Journal of Biotechnology & Biochemistry**, v. 3, p. 56-59, 2008.

KIRKEGAARD, J. A. & SARWAR, M. Biofumigation potential of brassicas - I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown brassicas. **Plant and Soil**, v. 201, p. 71-89, 1998.

KOORNNEEF, A. & PIETERSE, C. M. Cross talk in defense signaling. **Plant Physiology**, v. 146, p. 839-844, 2008.

KONSTANTINIDOU-DOLTSINIS, S. & SCHMITT, A. Impact of treatment with plant extracts from *Reynoutria sachalinensis* (F. Schmidt) Nakai on intensity of powdery mildew severity and yield in cucumber under high disease pressure. **Crop Protection**, v. 17, p. 649-656, 1998.

KUMAZAWA, S.; HAMASAKA, T. & NAKAYAMA, T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. **Food Chemistry**, v. 84, p. 329-339, 2004.

KUROSAWA, C.; PAVAN, M. A.; REZENDE, J. A. M. Doenças das cucurbitáceas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMNI FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. REZENDE, J. A. M. **Manual de fitopatologia**. Piracicaba: ESALQ, 2005.

KUROZAWA, C.; PAVAN, M. A. Doenças das cucurbitáceas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; BERGAMNI FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A.; REZENDE, J. A. M. **Manual fitopatologia: doenças cultivadas**. São Paulo: CERES, 1997.

LABANCA, E. R. G. **Purificação parcial de elicitores presentes em *Saccharomyces cerevisiae*: atividade como indutores de resistência em pepino (*Cucumis sativus*) contra *Colletotrichum lagenarium* e da síntese de gliceolinas em soja (*Glycine max*)**. 2002. p. 107. Dissertação (Mestrado). Escola Superior de Agricultura. “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo. Piracicaba-SP, 2002.

LARKIN, R. P. & GRIFFIN, T. S. Control of soilborne potato diseases using Brassica green manures. **Crop Protection**, v. 26, p. 1067–1077, 2007.

LEITE, C. D.; BOTELHO, R. V.; FARIA, C. M. D. R. & MAIA, A. J. **Extrato de alho e óleo vegetal no controle do míldio da videira**. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 429-436, 2011.

LIMA, A. O. **Biofumigação do solo com *Brassica rapa* para o controle de fitonematóides**. 2006. p. 56. Dissertação (Mestrado) – Setor de Fitopatologia, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2006.

LIU, F.; ZHUGE, Y. Y.; YANG, C. Y.; JIN, S. X.; CHEN, J.; LI, H. & DAI, G. H. Control Effects of some Plant Extracts against Cucumber Powdery Mildew (*Sphaerotheca fuliginea*) and their Stability Study. **Journal Horticulture Science**, v. 75 p. 147–152, 2010.

LODHA, S.; SHARMA, S. K. & AGGARWAL, R. K. Solarization and natural heating of irrigated soil amended with cruciferous residues for improved control of *Macrophomina phaseolina*. **Plant Pathology**, v. 46, p. 186-190, 1997.

LUSTOSA, S. R.; GALINDO, A. B.; NUNES, L. C. C.; RANDAU, K. P. & NETO, P. J. R. Própolis: atualizações sobre a química e a farmacologia. **Revista Brasileira de Farmacognosai**, v. 18, p. 447-454, 2008.

MARCUCCI, M. C. Própolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. **Apidologie**, v. 26, p. 83-99, 1995.

MATTHIESSEN, J. N. & KIRKEGAARD, J. A. Biofumigation and enhanced biodegradation: opportunity and challenge in soilborne pest and disease management. **Critical Reviews of Plant Science**, v. 25, p. 235–265, 2006.

MATTHIESSEN, J. N.; WARTON, B. & SHACKLETON, M. A. The importance of plant maceration and water addition in achieving high *Brassica*-derived isothiocyanate levels in soil. **Agroindustria**, v. 3, p. 277–280, 2004.

MAZZOLA, M.; REARDON, C. L. & BROWN, J. Initial *Pythium* species composition and Brassicaceae seed meal type influence extent of *Pythium*-induced plant growth suppression in soil. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 48, p. 20–27, 2012.

MAZARO, S. M.; SANTOS, I.; CITADIN, I.; GOUVEA, A. & POSSENTI, J. C. Indução de Resistência em Plantas. In: Thomas Newton Martin & Marcelo Marcos Montagner. (Org.). **Sistema de Produção Agropecuária**. -1 ed. UTFPR - Dois Vizinhos. 2007.

MAZARO, S. M.; DESCHAMPS, C.; 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, p.185-190, 2008.

MERESTA, L. & MERESTA, T. Sensitivity of bovine mastitis bacteria to propolis in vitro. **Medycyna Weterynaryjna**, v. 41, p. 489-492, 1985.

MESSIAEN, C. M.; BLANCARD, D.; ROUXEL, F. & LAFON, R. **Enfermedades de las hortalizas**. Mundi-Prensa, 1995.

MÉTRAUX, J. Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge. **European Journal of Plant Pathology**, v. 107, p. 13-18, 2001.

MICHEREFF FILHO, M.; MOURA, A. P. de; GUIMARÃES, J. A.; REYES, C. P.; CARVALHO, A. D. F. de; AMARO, G. B.; LOPES, J. F. & LIZ, R. S. de. Recomendações técnicas para o controle de pragas do pepino. Circular técnica 109. Embrapa. Brasília, DF. Outubro, 2012.

MITHEN, R. F. Glucosinolates and their degradation products. **Advances in Botanical Research**, v. 35, p. 213–262, 2001.

MOCCELLIN, R. **Espécies de brássicas no controle de fitopatógenos habitantes do solo**. 2011. Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco-PR, 2011.

MOJTAHEDI, H.; SANTO, G. S.; WILSON, J. H. & HANG, A. N. Managing *Meloidogyne chitwoodi* on potato with rapeseed as green manure. **Plant Disease**, v. 77, p. 42-46, 1993.

MORRA, M. J. & BOREK, V. Glucosinolate preservation in stored Brassicaceae seed meals. **Journal of Stored Products Research**, v. 46, p. 98-102, 2010.

MORAES, W. B.; JESUS JUNIOR, W. C. de; BELAN, L. L.; PEIXOTO, L. de A. & PEREIRA, A. J. Aplicação foliar de fungicidas e produtos alternativos reduz a severidade do oídio do tomateiro. **Nucleus**, v. 8, p. 1-12, 2011.

MOTISI, N.; MONTFORT, F.; FALOYA, V.; LUCAS, P. & DORÉ, T. Growing *Brassica juncea* as a cover crop, then incorporating its residues provide complementary control of *Rhizoctonia* root rot of sugar beet. **Field Crops Research**, v. 113, p. 238-245, 2009.

MUR, L. A. J.; KENTON, P.; ATZORN, R.; MIERSCH, O. & WASTERNAK, C. The outcomes of concentration-specific interactions between salicylate and jasmonate signaling include synergy, antagonism, and oxidative stress leading to cell death. **Plant Physiology**, v. 140, p. 249-262, 2006.

NEVES, W.; FREITAS, L. G.; COUTINHO, M. M.; PARREIRA, D. F.; FERRAZ, S. & COSTA, M. D. Biofumigação do solo com espécies de brássicas para o controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 31, p. 195-201, 2007.

NORSWORTHY, J.K. & MEEHAN, J.T. Herbicidal activity of eight isothiocyanates on Texas panicum (*Panicum texanum*), large crabgrass (*Digitaria sanguinalis*), and sicklepod (*Senna obtusifolia*). **Weed Science**, v. 53, p. 515-520, 2005.

PARK, Y .K.; KOO, M. H.; IKEGAKIM, K. & CONTADO, J. L. Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* própolis from various regions of Brazil. **Biologia Tecnológica**, v. 40, p. 97-106, 1997.

PASINI, C.; D'AQUILA, F.; CURIR, P. & GULLINO, M. L. Effectiveness of anti fungal compounds against rose powdery mildew (*Sphaerotheca pannosa* var. *rosae*) in glass houses. **Crop Protection**, v.16, p.251-256, 1997.

PEREIRA, C. S.; GUIMARÃES, R. J.; POZZA, E. A. & Silva, A. A. da. Controle da cercosporiose e da ferrugem do cafeeiro com extrato etanólico de própolis. **Revista Ceres**, v. 55p. 369-376, 2008.

PIETTA, P. G.; GARDANA, C. & PIETTA A. M. Analytical methods for quality control of propolis. **Fitoterapia**, v. 73, p. 7-20, 2002.

PIETERSE, C. M. J.; VAN PELT, J. A.; VAN WEES, S. C. M.; TON, J.; VERHAGEN, B. W. M.; LÉON-KLOOZTERZIEL, K.; HASE, S.; VOS, M. de; OOESTEN, V. V.; POZO, M.; SPOEL, S.; VAN DER ENT, S.; KOOMNEEF, A.; CHALFUN-JUNIOR, A.; RESEBDE, M. V. & VAN LOON. L. C. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada. **Revisão Anual de Patologia de Plantas**, v. 13 p. 277-295, 2005.

POZZA, A. A. A. **Influência da nutrição nitrogenada e potássica na intensidade da mancha de olho pardo (*Cercospora coffeicola* Berk. & Cook) em mudas de cafeeiro**. Dissertação (Mestrado). 1999. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 1999.

POZZA, A. A. A.; CARVALHO, J. G. de; MONTANARI, M.; GUIMARÃES, P. T. G., & SANTOS, D. M. Efeito do silício no controle da cercosporiose em três variedades de cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, p. 185-188, 2004.

PRADO FILHO, L. G.; AZEVEDO, J. L. & FLECHTMANN, C. H. Antimicrobianos em própolis de *Apis mellifera*. **Boletim da Indústria Animal**, v. 20, p. 399-403, 1962.

QUIROGA, E. N.; SAMPIETRO, D. A.; SOBERÓN, J. R.; SGARIGLIA, M. A. & VATTUONE, M. A. Propolis from the northwest of Argentina as a source of antifungal principles. **Journal of Applied Microbiology**, v.101, p. 103-110, 2006.

R. DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. 2010. URL <http://www.R-project.org>.

RAMIREZ-VILLAPUDUA, J. & MUNNECKE, D. E. Solar heating and amendments control cabbage yellows. **California Agriculture**, v. 40, p. 11-13, 1986.

ROBINSON, R. W. & DECKER-WALTERS, D. S. **Cucurbits**. CAB International, Wallingford, 1999.

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

ROJO, E.; SOLANO, R. & SANCHEZ-SERRANO, J. J. Interactions between signaling compounds involved in plant defense. **Journal Plant Growth Regul**, v. 22, p. 82-98, 2003.

ROMEIRO, R. S.; **Controle biológico de doenças de plantas**, Viçosa, MG, 2007.

SALLAM, N. M. A. Control of tomato early blight disease by certain aqueous plant extracts. **Plant Pathology Journal**, v. 10, p. 187-191, 2011.

SANTOS, C. E. C. **Apiterapia, tratamento com produtos das abelhas**. Viçosa, MG, 2007.

SANTOS, F. S.; SOUZA, P. E.; RESENDE, M. L. V.; POZZA, E. A.; MIRANDA, J. C.; RIBEIRO JUNIOR, P. M. & MANERBA, F. C. Efeito de extratos vegetais no progresso de doenças foliares do cafeeiro orgânico. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 59-63, 2007.

SHANER, G. & FINNEY, R.E. The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in Knox wheat. *Phytopathology* 67:1051-1056. 1977.

SCHOENMAKER, I. A. S. & GUINI, R. Biofumigação do solo para o controle de *Pythium* spp. **Summa Phytopathologica**, v. 27, p. 308-312, 2001.

SHANMUGASUNDARAM, S.; WILLIAMS, P. H. & PETERSON, C. E. Inheritance of resistance to powdery mildew in cucumber. **Phytopathology**, v. 61, p. 1218-1221, 1971.

SILICI, S. & KUTLUCA, S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, p.69-73, 2005.

SILVA, R. F.; PASCHOLATI, S. F. & BEDENDO, I. P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 32, p. 189-196, 2007.

SILVA, R. A.; REIS, V. M.; BALDANI, J. I. & OLIVARES, F. L.; Defesa de plantas contra o ataque de fitopatógenos. **Documentos da Embrapa, Serópedica**, RJ, 2008.

SILVA, J. A. da; PEGADO, C. M. A.; RIBEIRO, V. V.; BRITO, N. M. de & NASCIMENTO, L. C. do. Efeito de extratos vegetais no controle de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* em sementes de caupi. **Ciência e agrotecnologia**, v. 33, p. 611-616, 2009.

SIMÕES, C. C.; ARAUJO, D. B. de & ARAUJO, R. P. C. de. Estudo in vitro e in vivo da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p. 84-89, 2008.

SITTERLY, W. R. The powdery mildews of cucurbits. In: SPENCER, D. **The powdery mildews**. Academic Press, London, 1978.

SMOLINSKA, U. & HORBOWICZ, M. Fungicidal activity of volatiles from selected cruciferous plants against resting propagules of soil-borne fungal pathogens. **Institute of vegetable crops**, v. 3, p. 96-100, 1999.

STADNIK, M. J. Indução de resistência a oídios. **Summa Phytopathologica**, v. 23, p. 175-177, 2000.

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

STEPANOVIC, S., ANTIC, N., DAKIC, I. & SVABIC-VLAHOVIC, M. In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. **Microbiological Research**. v. 158, p. 353-357, 2003.

STICHER, L.; MAUCH, M. B. & METRAUX, J. P. Systemic acquired resistance. **Annual Review of Phytopathology**, v. 35, p. 235-270, 1997.

STOMPOR-CHRZAN, E. Evaluation of usefulness of propolis for control of damping off on leguminous plants. **Progress Plant Protection**, v. 44, p. 1111-1121, 2004.

SULEIMAN, M. N. & EMUA, S. A. Efficacy of four plant extracts in the control of root rot disease of cowpea (*Vigna unguiculata* [L.] Walp). **African Journal of Biotechnology**, v. 8, p. 3806-3808, 2009.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed., Porto Alegre: Artmed, 2009.

UZEL, A.; SORKUN, K.; ONÇAG, O.; ÇOGULU, D.; GENÇAY O. & SALIH, B. Chemical composition and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. **Microbiological Research**, v. 160, p. 189-195, 2005.

VACALOUNAKIS, D. J.; KLIRONOMOU, E.; PAPADAKIS, A. Species spectrum, host range and distribution of powdery mildews on cucurbitaceae in Crete. **Plant Pathology**, 43: 154-159, 1994.

VALDES, G.; RUIZ, M. & MARTIN, M. Caracterizacion antibacteriana del propoleo de los municipios de Madruga y Mariel de la provincia de La Habana. **Ciencia y Tecnica Agricultura-Apicultura**, v. 5, p. 25-37, 1989.

VAN LOON, L. C., REP, M. & PIETERSE, C. M. J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. **Annual Review of Phytopathology**, v. 44, p.135–162, 2006.

VECHET, L.; LENKA, B. & MILADA, S. A comparativ estudy of the efficiency of several sources of induced resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) in wheat underfield conditions. **Crop Protection**, v. 28, p. 151-154, 2009.

VERMERRIS, W. & NICHOLSON, R. **Phenolic compound biochemistry**. Dordrecht: Springer, 2006.

VIEIRA, G. H. C. da & ANDRADE, W. P, da. Efeito fungicida de produtos alternativos no controle de oídio em pepineiro. **Omnia Exatas**, v. 2, p. 45-49, 2009.

WALTERS, D. R. Are plants in the field already induced? Implications for practical disease control. **Crop Protection**, v. 28, p. 459–465, 2009.

WEERAKOON, D. M. N.; REARDON, C. L.; PAULITZ, T. C.; IZZO, A. D. & MAZZOLA, M. Long-term suppression of *Pythium* abappressorium induced by *Brassica juncea* seed meal amendment is biologically mediated. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 51, p. 44-52, 2012.

ZHAO, H.; WANG, B.C.; ZHAO, H.C.; WANG, J.B. Stress stimulus induced resistance to *Cladosporium cucumerinum* in cucumber seeding. **Colloids and Surfacer B: Biointerfaces**, v.44, p.36-40, 2005.

## ÍNDICE DE APÊNDICES

APÊNDICE A – Resumo da análise da variância para as variáveis AACPD da severidade e incidência de oídio em pepino submetido ao efeito de concentrações crescentes de diferentes extratos de pó canola. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012. ....	81
APÊNDICE B – Resumo da análise de regressão para a variável AACPD da severidade de oídio em pepino, quando submetidos a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012 .....	81
APÊNDICE C – Resumo da análise de regressão para a variável AACPD da incidência de oídio em pepino, quando submetidos a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012 .....	81
APÊNDICE D – Resumo da análise da variância para as variáveis AACPD da severidade e incidência de oídio em pepino submetido ao efeito de concentrações crescentes de diferentes extratos de pó canola. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012. ....	82
APÊNDICE E – Resumo da análise de regressão para a variável AACPD da severidade de oídio em pepino, quando submetidos a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012 .....	82
APÊNDICE F – Resumo da análise de regressão para a variável AACPD da incidência de oídio em pepino, quando submetidos a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012 .....	82
APÊNDICE G – Resumo da análise da variância para as variáveis Proteínas, PAL e Fenóis submetidas ao efeito de concentrações crescentes, diferentes extratos de pó canola e tempo de coleta do material vegetal. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.....	83
APÊNDICE H – Resumo da análise de regressão para a variável Proteínas, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.....	83
APÊNDICE I – Resumo da análise de regressão para a variável PAL, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.....	84
APÊNDICE J – Resumo da análise de comparação de médias para a variável Fenóis, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.....	85
APÊNDICE L – Resumo da análise da variância para as variáveis Proteínas, PAL e Fenóis submetidas ao efeito de concentrações crescentes, diferentes extratos de pó canola e tempo de coleta do material vegetal. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.....	86

APÊNDICE M – Resumo da análise de regressão para a variável Proteínas, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.....	86
APÊNDICE N – Resumo da análise de regressão para a variável PAL, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.....	87
APÊNDICE O – Resumo da análise de comparação de médias pelo teste de Duncan e regressão para a variável Fenóis, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.....	88
APÊNDICE P – Resumo da análise da variância para as variáveis AACPD da severidade e incidência de oídio em pepino submetido ao efeito de concentrações crescentes e de diferentes épocas de aplicação do Extrato Etanólico de Própolis. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2011. ....	89
APÊNDICE Q – Resumo da análise de regressão para a variável incidência, quando submetida a concentrações crescentes e diferentes épocas de aplicação do Extrato Etanólico de Própolis. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2011.....	89
APÊNDICE R – Resumo da análise da variância para as variáveis AACPD da severidade e incidência de oídio em pepino submetido ao efeito de concentrações crescentes e de diferentes épocas de aplicação do Extrato Etanólico de Própolis. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2011. ....	89
APÊNDICE S – Resumo da análise de regressão para a variável incidência, quando submetida a concentrações crescentes e diferentes épocas de aplicação do Extrato Etanólico de Própolis. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2011.....	90
APÊNDICE T – Resumo da análise de regressão para a variável severidade, quando submetida a concentrações crescentes do Extrato Etanólico de Própolis. Primeiro e Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2011.....	90
APÊNDICE U – Resumo da análise de comparação de médias para a variável severidade, quando submetida as épocas de aplicação do Extrato Etanólico de Própolis. Primeiro e Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2011.....	90
APÊNDICE V – Figura demonstrativa da disposição do experimento em estufa. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.....	91
APÊNDICE X – Figuras demonstrativas da severidade de oídio em folhas de pepino na concentração de 12%. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.....	91

APÊNDICE A – Resumo da análise da variância para as variáveis AACPD da severidade e incidência de oídio em pepino submetido ao efeito de doses crescentes de diferentes extratos de pó canola. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Análises	Quadrados Médios		
	GL	Severidade	Incidência
Extratos	3	311,31**	173,34**
Dose	4	1359,56**	72,94**
Extratos x Dose	12	33,98**	14,58**
Resíduo	60	1,73	2,09
CV		4,9 %	3,7%

\*\* Significativo a 1% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.01$ )

\* Significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

<sup>NS</sup> Não significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

APÊNDICE B – Resumo da análise de regressão para a variável AACPSD da severidade de oídio em pepino, quando submetidos a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Causas da variação	Quadrados médios			
	Extratos			
	Maceração	Infusão	Aquoso	Alcoólico
Linear	1997,0*	1137,82*	1640,95*	438,66*
Quadrática	245,53*	48,65*	40,23*	83,94*
Cúbica	47,87*	48,12*	39,29*	34,19*
Resíduo			1,73	

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

APÊNDICE C – Resumo da análise de regressão para a variável AACPID da incidência de oídio em pepino, quando submetidos a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Causas da variação	Quadrados médios			
	Extratos			
	Maceração	Infusão	Aquoso	Alcoólico
Linear	324,65*	14,89**	59,53**	7,53
Quadrática	14,92*	0,02	0,0	12,02*
Cúbica	11,67*	0,18	1,68	4,47
Resíduo			2,09	

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F

APÊNDICE D – Resumo da análise da variância para as variáveis AACPD da severidade e incidência de oídio em pepino submetido ao efeito de concentrações crescentes de diferentes extratos de pó canola. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Análise	GL	Quadrado Médio	
		Severidade (terço inferior e médio)	Incidência
Extratos	3	320,40**	373,61**
Concentrações	4	1012,46**	99,02**
Extratos x Conc.	12	43,54**	27,65**
Resíduo	60	1,88	0,80
CV		5,1 %	2,1%

\*\* Significativo a 1% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.01$ )

<sup>NS</sup> Não significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

APÊNDICE E – Resumo da análise de regressão para a variável AACPD da severidade de oídio em pepino, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Causas da variação	Quadrados médios			
	Extratos			
	Maceração	Infusão	Pó	Alcoólico
Linear	1700,38*	1065,61*	1543,49*	161,79*
Quadrática	6,62	11,90*	3,94	17,69*
Cúbica	17,05*	3,98	2,95	4,73
Resíduo			1,88	

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

APÊNDICE F – Resumo da análise de regressão para a variável AACPD da incidência de oídio em pepino, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Causas da variação	Quadrados médios			
	Extratos			
	Maceração	Infusão	Pó	Alcoólico
Linear	551,54*	31,51*	56,59*	5,79*
Quadrática	43,88*	0,03	0,37	0,01
Cúbica	20,54*	1,56	0,01	1,39
Resíduo			0,80	

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

APÊNDICE G – Resumo da análise da variância para as variáveis Proteínas, PAL e Fenóis submetidas ao efeito de concentrações crescentes, diferentes extratos de pó canola e tempo de coleta do material vegetal. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Análises	GL	Quadrados Médios		
		Proteínas	PAL	Fenóis
Tempo de coleta (TC)	3	47.93**	0.000000876**	0,00095*
Extrato	3	55.09**	0.000001326**	0,0007
Concentrações	4	37.04**	0.000000207**	0,0020
TC x Extrato	9	8.79**	0.000000325**	0,0007
TC x Concentrações	12	10.98**	0.000000032**	0,0004
Extrato x Concentrações	12	6.53**	0.000000125**	0,0003
TC x Extrato X Concentrações	36	1.55**	0.000000034**	0,0002
Resíduo	160	0.54	0.00000000733	0,0007
CV				2,28

\*\* Significativo a 1% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.01$ )

\* Significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

<sup>NS</sup> Não significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

APÊNDICE H – Resumo da análise de regressão para a variável Proteína, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Causas da variação	Quadrados médios			
	Antes da aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	0.01 <sup>NS</sup>	0.12 <sup>NS</sup>	1.73 <sup>NS</sup>	0.11 <sup>NS</sup>
Quadrática	0.03 <sup>NS</sup>	0.00 <sup>NS</sup>	0.50 <sup>NS</sup>	0.28 <sup>NS</sup>
Cúbica	0.01 <sup>NS</sup>	0.01 <sup>NS</sup>	0.47 <sup>NS</sup>	0.29 <sup>NS</sup>
Resíduo				0.54

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da variação	Quadrados médios			
	24 horas após a aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	92.45*	47.76*	0.01 <sup>NS</sup>	5.18*
Quadrática	2.84*	0.03 <sup>NS</sup>	2.56*	2.48*
Cúbica	0.39 <sup>NS</sup>	1.15 <sup>NS</sup>	0.11 <sup>NS</sup>	0.19 <sup>NS</sup>
Resíduo				0.54

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da varia- ção	Quadrados médios			
	72 horas após a aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	156.29*	16.14*	0.28 <sup>NS</sup>	3.44*
Quadrática	1.92 <sup>NS</sup>	0.00 <sup>NS</sup>	0.27 <sup>NS</sup>	0.31 <sup>NS</sup>
Cúbica	1.43 <sup>NS</sup>	2.25*	1.59 <sup>NS</sup>	0.69 <sup>NS</sup>
Resíduo	0.54			

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da variação	Quadrados médios			
	144 horas após a aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	59.37*	5.39*	0.79 <sup>NS</sup>	1.25 <sup>NS</sup>
Quadrática	1.69 <sup>NS</sup>	0.03 <sup>NS</sup>	0.00 <sup>NS</sup>	0.11 <sup>NS</sup>
Cúbica	0.01 <sup>NS</sup>	0.01 <sup>NS</sup>	0.96 <sup>NS</sup>	0.07 <sup>NS</sup>
Resíduo	0.54			

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

APÊNDICE I – Resumo da análise de regressão para a variável FAL, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Causas da varia- ção	Quadrados médios			
	Antes da aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	0.0000000 <sup>NS</sup>	0.0000000 <sup>NS</sup>	0.00000018*	0.00000009*
Quadrática	0.0000000 <sup>NS</sup>	0.0000000 <sup>NS</sup>	0.00000011*	0.00000006*
Cúbica	0.0000000 <sup>NS</sup>	0.0000000 <sup>NS</sup>	0.00000004*	0.00000005*
Resíduo	0.0000000733			

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da variação	Quadrados médios			
	24 horas após a aplicação			

	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	0.00000048*	0.00000002 <sup>NS</sup>	0.00000089*	0.00000030*
Quadrática	0.00000001 <sup>NS</sup>	0.00000011*	0.00000000 <sup>NS</sup>	0.00000008*
Cúbica	0.00000002 <sup>NS</sup>	0.00000004*	0.00000003*	0.00000000 <sup>NS</sup>
Resíduo	0.00000000733			

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da varia- ção	Quadrados médios			
	72 horas após a aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	0.00000000 <sup>NS</sup>	0.00000013*	0.00000027*	0.00000008*
Quadrática	0.00000007*	0.00000005*	0.00000009*	0.00000002 <sup>NS</sup>
Cúbica	0.00000010*	0.00000001 <sup>NS</sup>	0.00000001 <sup>NS</sup>	0.00000001 <sup>NS</sup>
Resíduo	0.00000000733			

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da variação	Quadrados médios			
	144 horas após a aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	0.00000001 <sup>NS</sup>	0.00000027*	0.00000005*	0.00000001 <sup>NS</sup>
Quadrática	0.00000000 <sup>NS</sup>	0.00000000 <sup>NS</sup>	0.00000002 <sup>NS</sup>	0.00000005*
Cúbica	0.00000008*	0.00000002 <sup>NS</sup>	0.00000000 <sup>NS</sup>	0.00000001 <sup>NS</sup>
Resíduo	0.00000000733			

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

APÊNDICE J – Resumo da análise de comparação de médias para a variável Fenóis, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

NOME	MEDIAS	MEDIAS ORIGINAIS	5%	1%
72 hs	1.235979	0.527644	a	A
24 hs	1.230927	0.515181	ab	A
144 hs	1.223562	0.497105	b	A
Anterior	1.203788	0.449106	c	B

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si ao nível de significância indicado

APÊNDICE L – Resumo da análise da variância para as variáveis Proteínas, FAL e Fenóis submetidas ao efeito de concentrações crescentes, diferentes extratos de pó canola e tempo de coleta do material vegetal. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Análises	GL	Quadrados Médios		
		Proteínas	PAL	Fenóis
Tempo de coleta (TC)	3	10.20**	0.000000821**	0,0017*
Extrato	3	33.28**	0.000001417**	0,0108*
Concentrações	4	14.88**	0.000000534**	0,0026*
TC x Extrato	9	7.29**	0.000000370**	0,0010*
TC x Concentrações	12	5.89**	0.000000064**	0,0002
Extrato x Concentrações	12	3.22**	0.000000258**	0,0004*
TC x Extrato X Concentrações	36	1.14**	0.000000046**	0.000
Resíduo CV	160	0.464	0.00000001586	0,0001 0,9

\*\* Significativo a 1% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.01$ )

\* Significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

<sup>NS</sup> Não significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

APÊNDICE M – Resumo da análise de regressão para a variável Proteínas, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Causas da variação	Quadrados médios			
	Antes da aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	0.0415 <sup>NS</sup>	0.1349 <sup>NS</sup>	1.1076 <sup>NS</sup>	0.0023 <sup>NS</sup>
Quadrática	0.1123 <sup>NS</sup>	0.0002 <sup>NS</sup>	2.1806*	0.8813 <sup>NS</sup>
Cúbica	0.0004 <sup>NS</sup>	0.0633 <sup>NS</sup>	0.7059 <sup>NS</sup>	0.0003 <sup>NS</sup>
Resíduo			0.464	

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da variação	Quadrados médios			
	24 horas após a aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	39.3056*	32.4342*	1.6512 <sup>NS</sup>	5.4223*
Quadrática	7.4241*	2.2567*	1.5581 <sup>NS</sup>	0.2789 <sup>NS</sup>
Cúbica	0.5556 <sup>NS</sup>	0.1944 <sup>NS</sup>	0.6571 <sup>NS</sup>	0.5406 <sup>NS</sup>
Resíduo			0.464	

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da variação	Quadrados médios			
	72 horas após a aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	40.3267*	19.8372*	0.0045 <sup>NS</sup>	2.9290*
Quadrática	2.4105*	0.3498 <sup>NS</sup>	0.1985 <sup>NS</sup>	0.0502 <sup>NS</sup>
Cúbica	0.0003 <sup>NS</sup>	0.0000 <sup>NS</sup>	0.0101 <sup>NS</sup>	0.4626 <sup>NS</sup>

Resíduo 0.464

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da variação	Quadrados médios			
	144 horas após a aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	4.9576*	15.7713*	0.3217 <sup>NS</sup>	0.2015 <sup>NS</sup>
Quadrática	0.2699 <sup>NS</sup>	4.8117*	0.3957 <sup>NS</sup>	0.0010 <sup>NS</sup>
Cúbica	2.5760*	2.3463*	1.0759 <sup>NS</sup>	0.0186 <sup>NS</sup>
Resíduo	0.464			

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

APÊNDICE N – Resumo da análise de regressão para a variável FAL, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Causas da variação	Quadrados médios			
	Antes da aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>
Quadrática	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>
Cúbica	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>
Resíduo	0.0000001586			

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da variação	Quadrados médios			
	24 horas após a aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	0.000009*	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000025*	0.000015*
Quadrática	0.000001 <sup>NS</sup>	0.000001*	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000003*
Cúbica	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000001 <sup>NS</sup>
Resíduo	0.0000001586			

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da variação	Quadrados médios			
	72 horas após a aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000001*	0.000005*	0.000002*
Quadrática	0.000001*	0.000002*	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>
Cúbica	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000002*	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>
Resíduo	0.0000001586			

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

Causas da variação	Quadrados médios			
	144 horas após a aplicação			
	Aquoso	Maceração	Infusão	Alcoólico
Linear	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000001*
Quadrática	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>
Cúbica	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>	0.000000 <sup>NS</sup>
Resíduo	0.0000001586			

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

APÊNDICE O – Resumo da análise de comparação de médias pelo teste de Duncan e regressão para a variável Fenóis, quando submetida a concentrações crescentes de diferentes extratos de pó de canola e tempo de coleta do material vegetal. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

		Anterior			
	nome	medias	medias originais	5%	1%
	maceracão	1.214879	0.475931	a	a
	infusao	1.210666	0.465713	a	a
	alcoólico	1.208834	0.461280	a	a
	aquoso	1.208701	0.460958	a	a
		24 horas			
	nome	medias	medias originais	5%	1%
	maceracão	1.255080	0.575225	a	a
	infusao	1.245163	0.550431	b	a
	alcoólico	1.223320	0.496511	c	b
	aquoso	1.213549	0.472702	d	b
		72 horas			
	nome	medias	medias originais	5%	1%
	maceracão	1.252971	0.569937	a	a
	infusao	1.248759	0.559400	ab	a
	alcoólico	1.243528	0.546362	ab	b
	aquoso	1.242087	0.542779	b	a
		144 horas			
	nome	medias	medias originais	5%	1%
	maceracão	1.229691	0.512141	a	a
	infusao	1.228016	0.508024	a	a
	alcoólico	1.227768	0.507414	a	a
	aquoso	1.223056	0.495866	a	a
		Quadrados médios			
Causas da variação	144 horas após a aplicação				
	Anterior	24 horas	72 horas	144 horas	
Linear	0,000043 <sup>NS</sup>	0,0039*	0,0066*	0.00040 <sup>NS</sup>	
Quadrática	0,000005 <sup>NS</sup>	0,000004 <sup>NS</sup>	0,00053*	0.00050*	
Cúbica	0,00013 <sup>NS</sup>	0,000000 <sup>NS</sup>	0.00040 <sup>NS</sup>	0.0000 <sup>NS</sup>	
Resíduo			0.00012		

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

APÊNDICE P – Resumo da análise da variância para as variáveis AACPD da severidade e incidência de oídio em pepino submetido ao efeito de concentrações crescentes e de diferentes épocas de aplicação do Extrato Etanólico de Própolis. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2011.

Análises	GL	Quadrados Médios	
		Severidade	Incidência
Épocas	2	2154.50 **	1453.88 *
Concentrações	5	1995.73 **	375.13 ns
Épocas x Dose	10	86.68 ns	764.61 *
Resíduo	54	295.25	345.71
CV		22 %	17%

\*\* Significativo a 1% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.01$ )

\* Significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

<sup>NS</sup> Não significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

APÊNDICE Q – Resumo da análise de regressão para a variável incidência, quando submetida a concentrações crescentes e diferentes épocas de aplicação do Extrato Etanólico de Própolis. Primeiro cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2011.

Causas da variação	Quadrados médios		
	Tempos de aplicação		
	24 horas antes	24 horas após	Aparecimento primeiros sintomas
Linear	714883,20*	1254041,11*	817085,06*
Quadrática	77669,03*	275213,63*	413671,72*
Cúbica	21515,75*	7429,61*	24944,00*
Resíduo		345,71	

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

APÊNDICE R – Resumo da análise da variância para as variáveis AACPD da severidade e incidência de oídio em pepino submetido ao efeito de concentrações crescentes e de diferentes épocas de aplicação do Extrato Etanólico de Própolis. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2011.

Análises	GL	Quadrados Médios	
		Severidade	Incidência
Épocas	2	9132.1 **	525.88 ns
Concentrações	5	1489.0 **	1293.33 **
Épocas x Concentrações	10	108.5 ns	941.71 **
Resíduo	54	79.7	262.27
CV		36 %	26 %

\*\* Significativo a 1% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.01$ )

\* Significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

<sup>NS</sup> Não significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

APÊNDICE S – Resumo da análise de regressão para a variável incidência, quando submetida a concentrações crescentes e diferentes épocas de aplicação do Extrato Etanólico de Própolis. Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2011.

Causas da variação	Quadrados médios		
	Tempos de aplicação		
	24 horas antes	24 horas após	Aparecimento primeiros sintomas
Linear	1057777,33*	3195322,54*	958886,21*
Quadrática	40728,18*	96663,73*	68690,68*
Cúbica	27236,10*	1235,15*	756032,94*
Resíduo		345,71	

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

APÊNDICE T – Resumo da análise de regressão para a variável severidade, quando submetida a concentrações crescentes do Extrato Etanólico de Própolis. Primeiro e Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2011.

Causas da variação	Quadrados médios	
	Tempos de aplicação	
	1° Cultivo	2° Cultivo
Linear	224067,53*	513313,77*
Quadrática	46215,34*	20476,67*
Cúbica	3371,59*	11,84 ns
Resíduo	295,25	79,7

\*Significativo a 5% de probabilidade de erro tipo I pelo teste F.

<sup>NS</sup> Não significativo a 5% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.05$ )

APÊNDICE U – Resumo da análise de comparação de médias para a variável severidade, quando submetida as épocas de aplicação do Extrato Etanólico de Própolis. Primeiro e Segundo cultivo. UTFPR, Campus Pato Branco, 2012.

Análises	GL	Quadrados Médios	
		Primeiro Cultivo	Segundo Cultivo
Épocas	2	19806.34**	160751.97**
Resíduo	15	5126	10104.55
CV		14 %	21 %

\*\* Significativo a 1% de probabilidade de erro ( $P \leq 0.01$ )

APÊNDICE V – Figura demonstrativa da disposição do experimento em estufa.



APÊNDICE X – Figuras demonstrativas da severidade de oídio em folhas de pepino na concentração de 12%. A – Extrato Infusão; B - Aquoso; C – Alcoólico e D - Maceração

