



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA**

**CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DA  
SEPTORIOSE NA CULTURA DO MARACUJAZEIRO  
COM PRODUTOS QUÍMICOS E INDUTORES DE  
RESISTÊNCIA**

**NATÁLIA DENIZ BRITO**

**VITÓRIA DA CONQUISTA  
BAHIA - BRASIL  
2022**

**NATÁLIA DENIZ BRITO**

**CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DA SEPTORIOSE NA CULTURA  
DO MARACUJAZEIRO COM PRODUTOS QUÍMICOS E INDUTORES  
DE RESISTÊNCIA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, *Campus* de Vitória da Conquista, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Fitotecnia, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Prof. Dr. Quelmo Silva de Novaes

Coorientadora: Profa. Dra. Danila Souza Oliveira Coqueiro

**VITÓRIA DA CONQUISTA  
BAHIA – BRASIL  
2022**

B862c

Brito, Natália Deniz.

Caracterização e controle da septoriose na cultura do maracujazeiro com produtos químicos e indutores de resistência. / Natália Deniz Brito, 2022.

89f. : il.

Orientador (a): Dr. Quelmo Silva de Novaes.

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de concentração em Fitotecnia. Vitória da Conquista, 2022.

Inclui referência F. 77 - 89.

1. Maracujazeiro. 2. Septoriose. 3. *Passiflora edulis*. 4. Efeitos fisiológicos. I. Novaes, Quelmo Silva de. II. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Programa de Pós- Graduação em Agronomia. T.III.

CDD. 634.425

*Catálogo na fonte: Juliana Teixeira de Assunção – CRB 5/1890*

UESB – Campus Vitória da Conquista – BA

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA  
Área de Concentração em Fitotecnia**

*Campus de Vitória da Conquista, BA*

**DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO**

**Título:** CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DA SEPTORIOSE NA CULTURA DO MARACUJAZEIRO COM PRODUTOS QUÍMICOS E INDUTORES DE RESISTÊNCIA

**Autora:** Natália Deniz Brito

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, pela seguinte Banca Examinadora:



---

Quelmo Silva de Novaes, D.Sc., UESB  
Presidente



---

Rafael José Vilela de Oliveira, D.Sc., UFPE



---

Leandro Dias da Silva, D.Sc., PNP/UESB

Data de realização: 28 de janeiro de 2022.

## DEDICATÓRIA

*A Deus.*

*Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos.*

Provérbios 16:3

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

A Deus, o maior dos mestres. Não conseguiria chegar até aqui sem aquele que me fortalece. Seguirei firme nos seus propósitos para minha vida, pois tudo sempre será para a sua honra e glória;

Aos meus avós, por me proporcionar todo apoio durante essa jornada, meus exemplos de caráter, força e trabalho;

À minha mãe, por todas as orações e torcida. Ao meu pai e minha irmã Laís, pelas palavras de apoio;

Ao meu orientador e amigo Quelmo, por todos os ensinamentos profissionais, acadêmicos e de vida. Gratidão por fazer a minha experiência como pós-graduanda enriquecedora. Sempre o levarei como exemplo de humildade, generosidade e respeito;

À minha coorientadora Danila e sua equipe, pelos ensinamentos e parceria;

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Fitopatologia. Ao professor Armínio, por toda contribuição para nossa pesquisa, sempre com entusiasmo e paciência; à Eveline, pelo companheirismo, ajuda e risadas; a Naasoom, por toda paciência, sempre solícito para ajudar e colaborar com o que fosse necessário; à Poliana, pelo auxílio, sempre com competência e generosidade; e à Lu, pelo apoio;

À minha amiga e irmã Rosi, que tornou todos os momentos mais leves e fraternos. Apoiamos uma a outra desde o início da graduação. Gratidão por sempre estar ao meu lado, por sua amizade e ajuda nos momentos necessários, sempre me apoiando nos momentos difíceis;

Aos amigos que cativei durante o mestrado, os meninos da Fisiologia Vegetal. Ao professor Leandro, pela competência e proatividade, agradeço por todo empenho para o enriquecimento desta pesquisa. A Raul, Mateus Pires, Matheus Ferreira e Marcos, por toda colaboração. Vocês são sensacionais, aprendi muito com cada um;

Aos meus amigos Bismarc, Jeniffer e Uesley, pelo encorajamento e torcida, e por estarem sempre dispostos a ajudar;

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia) e a todos os professores, pela oportunidade de realizar esse curso de mestrado;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo.

## RESUMO

BRITO, N.D. **Caracterização e controle da septoriose na cultura do maracujazeiro com produtos químicos e indutores de resistência.** Vitória da Conquista – BA: UESB, 2022. 86 p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia).\*

Neste estudo, considerou-se a hipótese de que o patógeno associado a doença septoriose em *Passiflora edulis* é o *Septoria passifloricola* e que o uso de produtos químicos e indutores de resistência podem causar efeitos fisiológicos na relação patógeno-hospedeiro que determinem a eficiência das medidas de controle. Assim, o objetivo deste estudo foi caracterizar o fungo causador da septoriose em maracujá e avaliar a eficiência de medidas de controle químico e alternativo. Os isolados do fungo *S. passifloricola* foram obtidos a partir de plantas de maracujá naturalmente infectadas. A caracterização morfológica foi feita medindo-se os conídios do fungo e a caracterização molecular dada pelo fator de alongação 1alfa ( $EF1\alpha$ ). Foram utilizados cinco diferentes fungicidas e dois indutores de resistência para os testes *in vitro* e *in vivo*. Nos testes *in vitro*, foi avaliado o crescimento micelial do fungo *S. passifloricola*, determinado a ED50, e a porcentagem de inibição. Em teste *in vivo*, foi avaliada a eficiência dos cinco fungicidas e dos dois indutores de resistência, quanto à severidade da doença e efeitos morfofisiológicos na planta. Através da caracterização morfológica e molecular, foi identificada que a espécie causadora da septoriose em *P. edulis* é a *S. passifloricola*, sendo a primeira caracterização molecular desse patógeno no Brasil. Nos testes *in vitro*, os fungicidas trifloxistrobina + tebuconazol, tebuconazol e difenoconazol tiveram inibição do crescimento micelial acima de 50%, entre a concentração de 1 e 10 ppm, e o produto indutor de resistência à base de *M. alternifolia* foi considerado altamente eficiente. Nos testes *in vivo*, os fungicidas azoxistrobina + difenoconazol, tiofanato-metílico, trifloxistrobina + tebuconazol, tebuconazol e difenoconazol; e os indutores de resistência reduziram a severidade dos sintomas ocasionados por *S. passifloricola*. Os produtos indutores de resistência promoveram aumento no teor de clorofilas e regularam positivamente as trocas gasosas nas plantas, já os fungicidas aumentaram os teores de carotenoides. Dentre os fungicidas avaliados, o difenoconazol apresentou a maior eficiência na redução da severidade da doença, promoveu maior crescimento das plantas, menor abscisão foliar e aumento na atividade da peroxidase do guaiacol (GPX).

**Palavras-chave:** septoriose; *Passiflora edulis*; efeitos fisiológicos.

---

\*Orientador: Professor Dr. Quelmo Silva de Novaes, UESB.

\*Coorientadora: Profa. Dra. Danila Souza Oliveira Coqueiro, UFBA.

## ABSTRACT

BRITO, N.D. **Characterization and control of septoriosiis in passion fruit culture with chemicals and resistance inducers.** Vitória da Conquista – BA: UESB, 2021. 86 p. (Dissertation – Master in Agronomy, Field of study, Plant Science)\*

In this study, it was hypothesized that the pathogen associated with *septoria* leaf spot in *Passiflora edulis* is *Septoria passifloricola* and that the use of chemical products and resistance inducers may cause physiological effects on the pathogen-host relationship, which determine the efficiency of control methods. Thus, the aim of this study was to characterize the fungus that causes septoria leaf spot in passionfruit and to evaluate the efficiency of chemical and alternative control measures. The isolates of the fungus *S. passifloricola* were obtained from naturally infected passion fruit plants. Morphological characterization was performed by measuring the conidia of the fungus and the molecular characterization given by the elongation factor 1alpha (EF1 $\alpha$ ). Five different fungicides and two resistance inducers were used for in vitro and in vivo tests. In the in vitro tests, the mycelial growth of the fungus *S. passifloricola* was evaluated, determined at ED50 and the percentage of inhibition. In vivo test the efficiency of the five fungicides and the two resistance inducers were evaluated, regarding the severity of the disease and mold-physiological effects on the plant. Through morphological and molecular characterization it was identified that the causative species of septoriosiis in *P. edulis* is *S. passifloricola*, this was the first molecular characterization of this pathogen in Brazil. In vitro tests the fungicides trifloxistrobin + tebuconazole, tebuconazole and difenoconazole inhibited mycelial growth above 50% between the concentration of 1 and 10 ppm and the resistance inducer product based on *M. alternifolia* was considered highly efficient. In vivo tests, the fungicides azoxystrobin + difenoconazole, thiophanate-methyl, trifloxystrobin + tebuconazole, tebuconazole and difenoconazole, and the resistance inducers, reduced the severity of symptoms caused by *S. passifloricola*. Resistance inducing products promoted an increase in chlorophyll content and positively regulated as gas exchange in plants, while fungicides increased carotenoide content. Among the fungicides evaluated, diphenconazole showed the highest efficiency in reducing disease severity, promoting higher plant growth, lower leaf absciscis and increased activity of guaiacol peroxidase (GPX).

**Keywords:** septoriose; *Passiflora edulis*; physiological effects.

---

\*Adviser: Professor Dr. Quelmo Silva de Novaes, UESB.

\*Coadvisor: Profa. Dra. Danila Souza Oliveira Coqueiro, UFBA.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Plantas de maracujá com sintomas de septoriose (A), identificação do picnídio do fungo *Septoria passifloricola* pelo microscópio óptico em aumento de 100x (B) e colônia fúngica isolada em placa de Petri (C) ..... 32
- Figura 2** – Transferência de disco de micélio do fungo *Septoria passifloricola* em placas de petri para testes *in vitro* ..... 36
- Figura 3** – Aplicação dos tratamentos em plantas de maracujazeiro ..... 38
- Figura 4** – Inoculação do fungo *Septoria passifloricola*, com auxílio de um pulverizador manual (A) e plantas inoculadas mantidas em condições de câmara úmida (B)..... 38
- Figura 5** – Escala de notas da severidade da doença causada pelo fungo *Septoria passifloricola*, em que: 1- Folhas sem sintomas; 2- Folhas com lesões menores que 2 mm; 3- Folhas com lesões maiores que a 2 mm com halo amarelado; 4- Folhas com lesões maiores que 2mm e amarelecimento; 5- Desfolha ..... 40
- Figura 6** – Avaliação de trocas gasosas das plantas de maracujá aos 25 dias após inoculação do fungo *Septoria passifloricola* ..... 41
- Figura 7** – Corte de discos foliares de maracujá (A) e deposição dos discos em francos contendo acetona (B) para determinação dos teores de pigmentos ..... 43
- Figura 8** – Liofilização de amostras de folhas de maracujá para determinação enzimática (A) e leitura das amostras em equipamento espectrofotômetro de microplacas..... 44
- Figura 9** – Etapas para determinação de atividades enzimáticas. Maceração das amostras vegetais na presença de nitrogênio líquido (A), transferência de amostras para tubos eppendorf (B), centrifugação de amostras (C), montagem da microplaca com as amostras e tampões de reação (D) e leitura em espectrofotômetro das amostras (E)..... 45
- Figura 10** – Sintomas de macha causada pelo fungo *Septoria passifloricola*, em folha de maracujá (A) e picnídios do *Septoria passifloricola* presente na lesão na folha de maracujá(B)..... 46
- Figura 11** – Plantas de maracujá com sintomas da doença septoriose após inoculação com fungo *Septoria passifloricola* em teste de patogenicidade ..... 47
- Figura 12** – Conídios do fungo *Septoria passifloricola* em meio BDA (aumento 100x)..... 48
- Figura 13** – Árvore filogenética com sequência de isolados de *Septoria passifloricola* considerando o fator de alongação 1alfa (EF1 $\alpha$ ) ..... 49

<b>Figura 14</b> – Crescimento micelial <i>in vitro</i> do fungo <i>Septoria passifloricola</i> em diferentes concentrações dos produtos azoxistrobina + difenoconazol (AD), tiofanato-metílico (TM), trifloxistrobina + tebuconazol (TT), tebuconazol (TE), difenoconazol (DI), fosfito de potássio (FP) e extrato de <i>M. alternifolia</i> (EM) .....	50
<b>Figura 15</b> – Nota de severidade de sintomas exibidos por plantas de maracujazeiro em função dos tratamentos, aos 8, 15 e 22 dias após inoculação com <i>Septoria passifloricola</i> . Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) .....	53
<b>Figura 16</b> – Nota de severidade de sintomas exibidos por plantas de maracujazeiro em função dos tratamentos, aos 8, 15 e 22 dias após inoculação com <i>Septoria passifloricola</i> . Médias acompanhadas de asterisco (*) diferem da testemunha, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) .....	54
<b>Figura 17</b> – Número de folhas de plantas de maracujazeiro inoculadas com <i>Septoria passifloricola</i> em função da aplicação de fungicidas (A) e indutores de resistência (B). Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) .....	55
<b>Figura 18</b> – Área foliar de plantas de maracujazeiro inoculadas com <i>Septoria passifloricola</i> em função da aplicação de fungicidas (A) e indutores de resistência (B). Testemunha (TES), azoxistrobina + difenoconazol (AD), tiofanato-metílico (TM), trifloxistrobina + tebuconazol (TT), tebuconazol (TE), difenoconazol (DI), fosfito de potássio (FP) e extrato de <i>M. alternifolia</i> (EM). Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) .....	55
<b>Figura 19</b> – Fotossíntese líquida (A) [A], condutância estomática (gs) [B], transpiração (E) [C] e razão entre a concentração interna e ambiente de CO <sub>2</sub> (Ci/Ca) [D] em folhas de maracujazeiro inoculadas com <i>Septoria passifloricola</i> em função dos tratamentos: testemunha (TES), azoxistrobina + difenoconazol (AD), tiofanato-metílico (TM), trifloxistrobina + tebuconazol (TT), tebuconazol (TE), difenoconazol (DI). Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) .....	57
<b>Figura 20</b> – Fotossíntese líquida (A) [A], condutância estomática (gs) [B], transpiração (E) [C] e razão entre a concentração interna e ambiente de CO <sub>2</sub> (Ci/Ca) [D] em folhas de maracujazeiro inoculadas com <i>Septoria passifloricola</i> , em função dos tratamentos: testemunha (TES), fosfito de potássio (FP) e extrato de <i>M. alternifolia</i> (EM). Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste Tukey ( $p < 0,05$ ) .....	58
<b>Figura 21</b> – Extravasamento de eletrólitos (%) em plantas de maracujazeiro inoculadas por <i>Septoria passifloricola</i> em função da aplicação de fungicidas (A) e indutores de resistência (B). Testemunha (TES), azoxistrobina + difenoconazol (AD), tiofanato-metílico (TM), trifloxistrobina + tebuconazol (TT), tebuconazol (TE), difenoconazol	

(DI), e fosfito de potássio (FP) e extrato de *M. alternifolia* (EM). Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste Tukey ( $p < 0,05$ ) ..... 59

**Figura 22** – Teores de clorofila total (A e B) e carotenoides (C e D) em plantas de maracujazeiro inoculadas por *Septoria passifloricola* em função da aplicação de fungicidas e indutores de resistência. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste Tukey ( $p < 0,05$ ) ..... 60

**Figura 23** – Atividade da peroxidase do guaiacol (GPX) (A) e da polifenoloxidase (PPO) (B) em folhas de maracujazeiros em função da aplicação de fungicidas, aos 0, 8, 15, 22 e 29 dias após inoculação com *Septoria passifloricola*. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste Tukey ( $p < 0,05$ ) ..... 61

**Figura 24** – Atividade das enzimas glutaciona peroxidase (GPX) (A) e polifenoloxidase (PPO) (B) em folhas de maracujazeiros inoculadas com *Septoria passifloricola* em função dos tratamentos testemunha, fosfito de potássio e extrato de *Melaleuca alternifolia*, aos 0, 1, 2, 3 e 4 dias após a primeira aplicação. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) ..... 62

**Figura 25** – Atividade das enzimas glutaciona peroxidase (GPX) (A) e polifenoloxidase (PPO) (B) em folhas de maracujazeiros inoculadas com *Septoria passifloricola* em função dos tratamentos testemunha, fosfito de potássio e extrato de *Melaleuca alternifolia*, aos 0, 1, 2, 3 e 4 dias após a segunda aplicação. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) ..... 62

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> – Fungicidas e indutores de resistência utilizados nos testes <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> no controle de <i>Septoria passifloricola</i> .....	34
<b>Tabela 2</b> – Equações de regressão, valores médios de ED50 (concentração suficiente para inibir 50% do crescimento micelial) e eficiência dos produtos, em relação ao crescimento micelial <i>in vitro</i> do fungo <i>Septoria passifloricola</i> na presença de diferentes produtos químicos .....	51
<b>Tabela 3</b> – Valores médios de percentagem de inibição do crescimento micelial (I%) de <i>Septoria passifloricola</i> na presença de diferentes produtos químicos.....	52
<b>Tabela 4</b> – Efeitos de tratamentos sobre altura de plantas, comprimento de raiz, massa seca de parte aérea e raiz em plantas de maracujazeiro inoculadas com <i>Septoria passifloricola</i> .....	56

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AD	Azoxistrobina + Difenconazol
AE	Altamente eficiente
BDA	Meio de cultura ágar batata dextrose
BOD	Estufa incubadora (Biochemical Oxygen Demand)
DAA	Dias após aplicação
DAI	Dias após inoculação
DI	Difenconazol
EM	Extrato de <i>Melaleuca alternifolia</i>
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FO	Fosfito de Potássio
GPX	Peroxidase do guaiacol ( $\mu\text{mol h}^{-1} \text{kg}^{-1} \text{MF}$ )
ME	Moderadamente eficiente
PE	Pouco eficiente
PPO	Polifenoxidase ( $\mu\text{mol h}^{-1} \text{kg}^{-1} \text{MF}$ )
TE	Tebuconazol
TM	Tiofanato-Metílico
TT	Trifloxistrobina + Tebuconazol

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REFERENCIAL TEÓRICO .....	17
2.1 O maracujazeiro .....	17
2.2 Principais doenças do maracujazeiro .....	18
2.3 Septoriose .....	19
2.4 Processos fisiológicos .....	21
2.5 Estresse oxidativo .....	22
2.6 Indução de resistência .....	24
2.7 Controle químico .....	27
2.7.1 Principais características das estrobirulinas .....	28
2.7.2 Principais características dos triazóis .....	29
2.7.3 Principais características dos benzimidazóis .....	30
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	31
3.1 Local do experimento .....	31
3.2 Obtenção dos isolados .....	31
3.3 Produção de mudas de maracujá .....	32
3.4 Teste de patogenicidade .....	32
3.5 Caracterização morfológica .....	33
3.6 Caracterização molecular .....	33
3.6.1 Amplificação, purificação e sequenciamento do DNA .....	33
3.6.2 Análises filogenéticas .....	34
3.7 Efeito <i>in vitro</i> de diferentes fungicidas e indutores de resistência no crescimento micelial do fungo <i>Septoria passifloricola</i> .....	34
3.8 Efeito <i>in vivo</i> de diferentes fungicidas e indutores de resistência na doença causada pelo fungo <i>Septoria passifloricola</i> em maracujazeiro.....	37
3.8.1 Tratamentos com fungicidas .....	37
3.8.2 Tratamentos com indutores de resistência .....	39
3.8.3 Avaliações .....	39
3.8.3.1 Severidade de sintomas da doença .....	39
3.8.3.2 Número de folhas .....	40
3.8.3.3 Características morfofisiológicas relacionadas ao crescimento .....	40
3.8.3.4 Trocas gasosas foliares .....	41
3.8.3.5 Extravasamento de eletrólitos .....	42
3.8.3.6 Teores de pigmentos fotossintéticos.....	42
3.8.3.7 Atividade das enzimas peroxidase do guaiacol (GPX) e polifenoloxidase (PPO) .....	43
3.9 Análise estatística dos dados .....	45
4 RESULTADOS .....	46
4.1 Caracterização morfológica e molecular do <i>S. passifloricola</i> .....	46

4.2 Inibição do crescimento micelial <i>in vitro</i> do fungo <i>Septoria passifloricola</i> na presença de diferentes fungicidas e indutores de resistência .....	49
4.3 Efeito <i>in vivo</i> de diferentes fungicidas e indutores de resistência na doença causada pelo fungo <i>Septoria passifloricola</i> em maracujá .....	52
4.3.1 Severidade .....	52
4.3.2 Características morfofisiológicas .....	54
4.3.3 Trocas gasosas foliares .....	56
4.3.4 Extravasamento de eletrólitos .....	58
4.3.5 Teores de pigmentos fotossintéticos .....	59
4.3.6 Atividade das enzimas peroxidase do guaiacol (GPX) e polifenoloxidase (PPO) .....	60
5 DISCUSSÃO .....	64
6 CONCLUSÕES .....	73
REFERÊNCIAS .....	74

## 1 INTRODUÇÃO

O maracujazeiro (*Passiflora edulis* Sims) é uma das espécies frutíferas de maior importância econômica para o Brasil que se destaca como maior produtor mundial. Além disso, a cultura possui uma grande importância social e econômica para produtores familiares, pois é produzida em diversos estados, gerando renda e empregos diretos e indiretos em toda a cadeia produtiva do maracujá.

Apesar do Brasil se destacar na produção do fruto, nos últimos 20 anos, vem sendo registrados perdas expressivas na produtividade do maracujá. No ano 2000, a produção era de 2.762.808 toneladas, já no ano de 2001, essa produção caiu para 467.464 toneladas, uma redução de mais de 80%. Atualmente, em 2020, foi contabilizada a produção nacional em 690.364 toneladas do fruto (IBGE, 2021).

Apenas a região nordeste produz mais de 71% de todo o maracujá do país, destacando os estados da Bahia e Ceará que juntos produzem 396.885 toneladas do fruto. O estado da Bahia, que durante anos foi o maior produtor nacional, registra dados alarmantes de perdas de produtividade. Nos últimos 10 anos, foram mais de 50% de perdas no estado (IBGE, 2021).

Os problemas fitossanitários são os principais responsáveis por essas perdas de produtividade e dano econômico na cultura do maracujá, principalmente, as doenças de etiologia fúngica, pois os patógenos são facilmente disseminados e afetam sementes, sistema radicular, caule, folhas, flores e frutos do maracujá.

A septoriose é uma importante doença fúngica de parte aérea do maracujazeiro que se manifesta nas folhas, como pequenas manchas necróticas que evoluem para um amarelecimento geral das folhas. Além disso, pode ocorrer desfolha precoce até mesmo com uma única lesão no limbo foliar, impactando diretamente no declínio de produtividade de pomares de maracujá. O primeiro relato de septoriose em maracujá no Brasil foi no estado do Ceará, em 1968, desde então, a doença vem se espalhando pelas regiões produtoras do país.

Apesar da relevância da septoriose na cultura do maracujazeiro, poucos são os estudos realizados com esse patógeno no Brasil e em países que já relataram a doença, principalmente com relação à identificação de espécies. Caracterizar o patógeno e determinar a sua espécie é fundamental para entender a relação patógeno-hospedeiro e, a partir disso, estabelecer medidas de controle eficientes para o manejo da doença.

Atualmente não existem recomendações para o manejo do *Septoria* na cultura do maracujá. A doença septoriose em outras culturas, como soja, tomate, trigo e alface, é amplamente estudada, as espécies de *Septoria* são caracterizadas, a relação com o hospedeiro é conhecida e a recomendação de medidas de controle da doença é eficiente.

A utilização de fungicidas e produtos indutores de resistência são adotados como medidas de controle contra espécies de *Septoria* em diversas culturas. Além do efeito fungitóxico, fungicidas e indutores de resistência promovem alterações nos tecidos vegetais, tais como nas características morfológicas de plantas, como altura, comprimento de raízes e área foliar; e em processos fisiológicos, como fotossíntese, teores de pigmentos fotossintéticos e atividade enzimática. Determinar essas alterações nos tecidos vegetais, durante o processo infeccioso da doença, é de grande importância para identificar a eficiência das medidas de controle, assim como as vantagens e/ou desvantagens das alterações morfofisiológicas nas plantas.

Sendo assim, neste estudo, considerou-se a hipótese de que o patógeno associado à doença septoriose em *P. edulis* é o *Septoria passifloricola* e que o uso de produtos químicos e indutores de resistência podem causar alterações morfofisiológicas no maracujazeiro que resultem em maior eficiência no controle. Assim, o objetivo deste estudo é caracterizar o fungo causador da doença septoriose em maracujá e avaliar a eficiência de medidas de controle químico e alternativo.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 O maracujazeiro

Dentre as centenas de espécies que compõem o gênero *Passiflora* L., destaca-se a espécie *Passiflora edulis* Sims, na qual se insere o maracujá-amarelo. Trata-se de uma cultura de regiões tropicais e subtropicais, cujos frutos são apreciados na fabricação de sucos, geleias, iogurtes, sorvetes, doces, entre outras iguarias (Meletti, 2011). Além disso, o maracujá contém diversos compostos com alto potencial farmacológico, importantes para o tratamento de ansiedade e processos inflamatórios (Tiwary *et al.*, 2016).

O Brasil é o maior produtor mundial de maracujá-amarelo, com uma área cultivada de 46.530 hectares e uma produção total de 690.364 toneladas (IBGE, 2021). A cultura do maracujá possui ainda uma grande importância social e econômica, emprega cerca de três a quatro trabalhadores por cada hectare implantado, oferecendo rápido retorno econômico aos fruticultores (Meletti, 2011; Faleiro e Junqueira, 2016).

A região nordeste é responsável por mais de 71% da produção nacional, dos quais 40% representam a produção apenas do estado da Bahia. Apesar da importância da cultura do maracujá na Bahia, expressivas quedas na produção comercial vêm sendo registradas nos últimos anos. No início dos anos 2000, o estado registou a produção máxima histórica de mais de 640.000 toneladas do fruto. Nos últimos anos, vem sofrendo acentuada queda, registrando, em 2011, uma produção de 410.078 toneladas do fruto e, recentemente, no ano de 2020, uma produção de apenas 197.160 toneladas. Somente nos últimos dez anos, a redução na produção de maracujá na Bahia foi de mais de 48% (IBGE, 2021).

O estado da Bahia, a partir do final da década de 1990, tornou-se o maior produtor nacional de maracujá, mantendo essa posição durante anos. O estado do Ceará encontrava-se sempre em segundo lugar. No entanto, nos últimos dez anos, aumentou a produção em mais de 75% e, no ano de 2020, o estado superou o *ranking*, sendo atualmente o maior produtor nacional de maracujá, com produção de 199.725 toneladas do fruto (IBGE, 2021).

Existem diversos fatores envolvidos na expressiva redução da produção de maracujá, no entanto, os problemas fitossanitários são de notória relevância, impactando diretamente na produção. Os danos na cultura ainda tendem a piorar, à medida que se aumenta as áreas de cultivo sem o manejo adequado, tais como o cultivo repetidamente no mesmo local e o uso indiscriminado de defensivos agrícolas (Fisher e Rezende, 2008).

## 2.2 Principais doenças do maracujazeiro

Vírus, bactérias, fungos, nematoides são alguns dos patógenos associados às principais doenças relatadas na cultura do maracujá. Esses patógenos afetam a planta desde a fase de semente até a planta adulta, causando danos em raízes, caules, folhas, flores e frutos, e impactando no estabelecimento, produtividade e longevidade da cultura (Machado *et al.*, 2017).

As fitoviroses são doenças limitantes para a cultura do maracujá, pois não se conhece controle químico eficiente e/ou econômico para elas (Meletti, 2011). No Brasil, o *cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) e o *passion fruit severe leaf distortion virus* (PSLDV) são os dois vírus considerados importantes para a cultura do maracujá, causando danos em folhas e frutos (Nascimento *et al.*, 2004; Ferreira *et al.*, 2010).

As bactérias também causam doenças recorrentes em maracujazeiros, dentre as mais relevantes, destaca-se o cancro-bacteriano, que afeta os órgãos da parte aérea; e a murcha bacteriana, que afeta principalmente as raízes, sintomas causados pelos agentes etiológicos *Xanthomonas campestris* pv. *passiflorae* e *Ralstonia solanacearum*, respectivamente (Machado *et al.*, 2017).

As doenças fúngicas são facilmente favorecidas por condições edafoclimáticas favoráveis, prejudicando diferentes fases e órgãos da planta, sendo, desse modo, os principais agentes causadores de prejuízos econômicos para a cultura do maracujá. *O Pythium aphanidermatum*, *Pythium ultimum*, *Phytophthora parasitica*, *Fusarium* sp. e *Rhizoctonia* sp são os principais fungos causadores de tombamento e mela de pré ou pós-emergência de plântulas. Já os patógenos mais relevantes relacionados às doenças do sistema vascular e radicular são o *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* e *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* (Viana *et al.*, 2003; Sussel, 2010; Machado *et al.*, 2017).

Os fungos fitopatogênicos associados a doenças da parte aérea na cultura do maracujá destacam-se por afetar diretamente na fotossíntese, principal processo fisiológico de plantas, reduzindo a área foliar, aumentando a queda de folhas e, conseqüentemente, reduzindo a área fotossintetizante (Sussel, 2010; Schmildt *et al.*, 2017).

A antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) constitui-se como um dos mais sérios problemas para o maracujazeiro, uma vez que causa manchas foliares, rachaduras e intensa queda de folhas. A doença conhecida como verrugose (*Cladosporium*

*herbarum*) afeta folhas, ramos e frutos, cujas lesões evoluem para necrose dos tecidos. Outro patógeno que se destaca quanto a danos e prejuízos para os cultivos de maracujá é o *S. passifloricola*, que causa lesões necróticas no limbo foliar, intensa abscisão de folhas e morte da planta (Machado *et al.*, 2017).

### 2.3 Septoriose

O gênero *Septoria* está entre os patógenos mais comuns e difundidos mundialmente, causando doenças foliares em plantas cultivadas e não cultivadas (Quaedvlieg *et al.*, 2013), o qual foi descrito a partir do *Septoria cytis*, isolada de uma leguminosa lenhosa (*Cytisus laburnum*), uma das primeiras espécies que apresentou sintomas de septoriose (Farr, 1992).

Fungos pertencentes ao gênero *Septoria* formam conidioma picnidial com células conidiogênicas holoblásticas, hialinas, de parede lisa, com proliferação simpodial e/ou percorrente e conídios multisseptados hialinos, lisos, filiformes e cilíndricos (Sutton, 1980).

Quanto à classificação taxonômica, o gênero *Septoria* pertence ao reino Fungi, Divisão Ascomycota, Classe Dothideomycetes, Subclasse Dothideomycetidae, Ordem Capnodiales, Família Mycosphaerellaceae. O gênero *Septoria* chega a ter mais de 2000 táxons relacionados (Wijayawardene *et al.*, 2021).

Três espécies de *Septoria* são relatadas causando doenças em espécies de *Passiflora*: *Septoria fructigena* Berk. & MA Curt. 1874; *Septoria passiflorae* Syd. 1939 e *Septoria passifloricola* Punith. 1980, sendo que a espécie *S. passifloricola* ocorre em *Passiflora brasiliensis* (= *P. alata*), *P. edulis*, *P. macrocarpa*, *P. quadrangularis* e *P. quitensis* (Punithalingam, 1980; Cline, 2006).

O primeiro relato de *Septoria* na cultura do maracujá foi no Equador, em 1939, quando Sydow nomeou o fungo como *Septoria passiflorae* Syd. 1939 (Sydow, 1939). Entre os anos de 1938-1939, houve uma grave epidemia de septoriose em espécies de *Passiflora edulis* e *Passiflora quitensis* na África do Sul. Nessa ocasião, registrou-se um homônimo do fungo como *Septoria passiflorae* Louw 1941 (Louw, 1941). Punithalingam (1980) publicou uma nova descrição do fungo, substituindo o nome *S. passiflorae* Louw non Syd por *Septoria passifloricola*, atualmente, sendo essa nomenclatura reconhecida para o fungo *Septoria* da África do Sul (Cline, 2006).

Relatos do fungo *Septoria* em espécies de *Passiflora* foram feitos em diversos países, como Nova Zelândia (Dingley, 1959), Kemya (Ondiekj, 1975), Austrália (Inch, 1978), Venezuela (Punithalingam, 1980), Estados Unidos da América (Alfieri *et al.*, 1994), Colômbia (Trujillo *et al.*, 1994), Hahajima-Ilhas Bonine (Kobayashi; Takashi, 2003) e mais recentemente em Taiwan (Daí e Lin, 2021).

Um dos primeiros relatos no Brasil de septoriose foi feito por Ponte (1968), no estado do Ceará, como uma doença secundária, de ocorrência escassa. Já em 1983, a doença foi descrita no Planalto Ibiapaba, no Ceará, como uma importante doença para a cultura do maracujá (Ponte *et al.*, 1983). Em 1991, Yamashiro (1991) descreveu a doença como umas das principais doenças fúngicas de maracujazeiros no Brasil.

A septoriose é considerada uma doença de alto impacto para as regiões produtoras de maracujá do país, por causar intenso desfolhamento e perda de produtividade, sendo comum em viveiros e lavouras, principalmente onde é deficiente o controle químico na prevenção do patógeno. Condições climáticas de elevada umidade e altas temperaturas são favoráveis para o desenvolvimento do patógeno, sendo comum o aparecimento da doença no final de períodos chuvosos (Rizzi *et al.*, 1998; Fisher e Rezende, 2008).

Os sintomas de septoriose ocorrem comumente em folhas, frutos e caule e, em condições muito favoráveis ao desenvolvimento do fungo, as infecções podem ocorrer em botões florais (Costa *et al.*, 2008). Os sinais da doença manifestam-se na forma de manchas, inicialmente pequenas, que crescem e se coalescem, com pontos necróticos. As manchas são amplamente esparsas, regulares e de forma circular ou levemente angulares, de cor creme-clara a marrom-clara, bordos marrom-escuros e um halo amarelado, característico de manchas de septoriose. A doença provoca um amarelecimento severo nas folhas, que se inicia com o halo amarelado e estágios mais avançados, tornando-se verde-claro ao redor da mancha (Peruch e Schroeder, 2018).

A doença ainda provoca uma severa desfolha precoce e acentuada em maracujazeiros. Uma única lesão por folha é capaz de ocasionar a sua queda, comprometendo o desenvolvimento da planta e a produtividade. A abscisão foliar pode levar à queda dos frutos ainda verdes, quando o patógeno ataca a planta em fase de produção. Quando os frutos são infectados, podem ocorrer lesões pardo-claras e com halo esverdeado, podendo coalescer e cobrir extensas áreas do fruto que prejudicam o seu desenvolvimento e maturação (Goes, 1998).

No Brasil, em regiões produtoras de maracujá, a septoriose destaca-se como uma doença comum e limitante para a cadeia produtiva do maracujá, como é o caso do estado de Santa Catarina, estados do Cerrado Brasileiro e Bahia (Peruch e Schroeder, 2018). No entanto, poucos são os estudos com esse agente fitopatogênico. Nesse contexto, algumas pesquisas se destacam, tais como: estudo da reação de progênies de maracujá à septoriose (Pinto *et al.*, 2006); incidência e severidade da septoriose em diferentes genótipos de maracujá no Distrito Federal (De Oliveira Bueno *et al.*, 2007); susceptibilidade de genótipos de maracujá à septoriose (Kudo *et al.*, 2012); e a quantificação da severidade da septoriose em frutos do maracujazeiro (Costa *et al.*, 2019). No estado da Bahia, é inexistente estudos com o fungo que causa essa doença.

## **2.4 Processos fisiológicos**

A produção de uma determinada cultura é resultado das interações entre a espécie vegetal escolhida, as condições ambientais e o manejo adotado. Em plantios comerciais, onde o objetivo é gerar receita, é necessário atingir boa produtividade, nesse sentido, é essencial conhecer detalhadamente o sistema de produção e, sobretudo, a fenologia, fisiologia e ecofisiologia da cultura que se deseja produzir (Bolton, 2009).

O desenvolvimento vegetal é dado pelo acúmulo de água e massa seca. A matéria seca, por sua vez, é resultado do acúmulo de carboidratos, proteínas, lipídios e nutrientes minerais. No reino vegetal, o processo pelo qual há formação de matéria seca é a fotossíntese, processo bem elucidado, que permite a síntese de compostos carbonados utilizando a luz (Taiz e Zeiger, 2013).

Os fotoassimilados constituem mais de 90% da massa seca da planta. Uma parte desses assimilados é utilizada durante o crescimento, convertendo-se em biomassa, a outra parte é oxidada na respiração e serve como fonte de energia para o crescimento e funcionamento dos processos biológicos (Popov *et al.*, 2003).

As perdas e ganhos no balanço das trocas gasosas, dadas pelas taxas de fotossíntese e de respiração, são diretamente influenciados pelos estresses ambientais nos quais as plantas estão inseridas, como mudanças de temperaturas, seca, salinidade, radiação ultravioleta, ozônio e infecções patogênicas (Van Breusegem *et al.*, 2001).

Processos infecciosos, causados por agentes fitopatogênicos, causam estresses nas plantas, interferindo em características fotossintéticas, tais como: trocas gasosas,

pigmentos fotossintéticos e fluxo de CO<sub>2</sub>, devido aos danos que os patógenos podem causar nas células do mesofilo, nas membranas, no funcionamento da maquinaria enzimática e na abertura e fechamento de estômatos, por exemplo (Berger *et al.*, 2007; Bolton, 2009).

Estudos estão buscando relacionar os efeitos fisiológicos da planta em situação de estresse causado por agentes fitopatogênicos, assim como o efeito fisiológico da utilização de produtos químicos para controle desses organismos em plantas. As avaliações de trocas gasosas podem ajudar nos estudos dos efeitos fisiológicos e da capacidade fotossintética das plantas sob estresse, conferindo as eventuais reações fisiológicas. As trocas gasosas são análises qualitativa e quantitativa que medem a taxa de assimilação líquida de CO<sub>2</sub>, condutância estomática, concentração interna de CO<sub>2</sub> e taxa de transpiração (Macedo *et al.*, 2017; Amaro *et al.*, 2018).

## **2.5 Estresse oxidativo**

Plantas em situação de estresse exibem alterações fisiológicas e metabólicas. A produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), tais como o superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), o peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), radicais hidroxila (OH<sup>·</sup>) e o oxigênio singlete (<sup>1</sup>O<sub>2</sub>), é nociva à planta, podendo inativar enzimas, danificar componentes celulares, células e tecidos, devido a sua ação tóxica e mutagênica (Azevedo *et al.*, 1998).

Os radicais livres são formados naturalmente e continuamente no metabolismo aeróbico, como nas reações fotoquímicas da fotossíntese e no processo respiratório, pois o oxigênio tem a capacidade de agir como um redutor parcial nas reações de oxidorredução. No entanto, em situações de estresse, a produção excessiva de EROs representa uma constante ameaça ao organismo vegetal (Carrijo, 2014).

Os organismos aeróbicos necessitam de O<sub>2</sub> comoceptor de elétrons para a produção eficaz de energia. No entanto, o oxigênio é uma fonte oxidante que, muitas vezes, tem a formação de oxidações secundárias, não envolvidas no metabolismo fisiológico. Essas oxidações secundárias são justamente os EROs, que podem ter consequências graves para as plantas, se os seus produtos não forem neutralizados por um sistema antioxidante eficiente (Sorg, 2004).

Para as plantas, as principais consequências do acúmulo de EROs estão relacionadas à degradação ou perda de funções de proteínas específicas, podendo ocorrer

alterações no DNA, na síntese proteica, alterações na expressão gênica e até a morte celular, além disso, pode ocorrer oxidação de lipídios relacionados às membranas celulares (Sorg, 2004).

O arsenal enzimático, com funções antioxidantes, está presente nos vegetais para combater os radicais livres. Em situações de estresse, tanto biótico quanto abiótico, a concentração de EROs é maior e, conseqüentemente, a atividade enzimática antioxidante também se eleva. Entre as principais enzimas antioxidantes está a peroxidase do guaiacol (GPX), já a polifenoloxidase (PPO) é uma enzima relacionada a mecanismos de defesa ao ataque de patógenos (Carrijo, 2014).

Em processos oxidativos em plantas, a primeira atividade enzimática de defesa é catalisar a transformação do superóxido em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ). Para eliminação dos  $H_2O_2$ , é necessário a atuação de duas enzimas, a catalase (CAT) e a GPX, que estão presentes em todas as células de plantas, animais e microrganismos aeróbicos, catalisando a oxirredução do peróxido de hidrogênio em oxigênio e água (Scandalios, 2005).

A enzima GPX faz parte de um amplo grupo de enzimas peroxidases, pertencente à classe III das peroxidases, formada por heme proteínas, cujo modo de ação é oxidar um radical específico. A ação da peroxidase é formada por dois ciclos, peroxidase e oxidase. A partir do ciclo oxidase, a enzima ferrosa pode reagir como o doador de elétron e produzir o  $H_2O_2$ , possibilitando, assim, a peroxidase voltar ao seu estado fundamental (O'Brien *et al.*, 2012)

Considerada como a principal enzima produtora de  $H_2O_2$ , sendo essa atividade antioxidante essencial para conter os radicais livres no organismo da planta, a GPX é importante nas reações de defesa das plantas, pois agem como sinalizador para outras respostas de defesa, relacionada à patogênese, lignificação e reforço da parede celular (Almagro *et al.*, 2009).

A enzima GPX está envolvida diretamente em diversas reações, como ligações de polissacarídeos, oxidação do ácido indol-3-acético (IAA), oxidação de fenóis, cicatrização de ferimentos, defesa de patógenos e regulação da alongação de células, além de resposta de hipersensibilidade (HR), síntese de lignina e suberina para o espessamento da parede celular por adição de compostos fenólicos (Quiroga *et al.*, 2000; Campos *et al.*, 2004; Tsai e Kao, 2004).

A PPO é uma enzima encontrada em muitas plantas, bactérias, fungos e algas (Thipyapong *et al.*, 2004); em plantas superiores, localiza-se nos tilacoides dos cloroplastos ou em outros plastídeos; além de fazer parte do grupo de enzimas relacionadas à defesa vegetal. Uma das principais características dessa enzima é a presença de cobre no centro ativo, o que proporciona a capacidade de catalisar reações envolvendo oxigênio (Mason, 1956; Bittner, 2006).

Em sua forma ativa, a PPO catalisa a hidroxilação de monofenóis a odofenóis (cresolase) e a oxidação de o-difenóis a o-diquinonas (catecolase). As polifenoloxidasas utilizam dois principais grupos de substratos, os monofenólicos (Citase p-cresol, tirosina e ácido p-cumárico) e os substratos difenólicos catecol, diidroxifenilalanina e ácido clorogênico (Vámos-Vigyázó, 1981).

A função das PPOs no processo de indução de resistência está relacionada ao aumento da resistência da parede celular dos tecidos vegetais, pois participam do processo de oxidação de compostos fenólicos, colaborando com a biossíntese de lignina, aumentando as barreiras físicas contra o ataque de patógenos (Yuan *et al.*, 2002).

## **2.6 Indução de resistência**

O cultivo de plantas em escala é extremamente favorável ao ataque de fitopatógenos que, muitas vezes, encontram o ambiente ideal para o seu desenvolvimento. No entanto, as plantas possuem seus próprios mecanismos de defesa para evitar os processos de infecção, podendo ser barreiras físicas e bioquímicas (Thakur e Sohal, 2013).

A resistência da planta a um agente fitopatogênico é definida pela capacidade de atrasar ou evitar a entrada e a subsequente infecção do patógeno em seus tecidos. Esse processo indutivo de resistência tem sido descrito como resistência sistêmica adquirida (RSA) e resistência sistêmica induzida (RSI). Na RSA, a resistência desenvolve-se sistematicamente ou de forma localizada; já na RSI, é necessário que haja uma molécula sinalizadora para expressão de proteínas de defesa (Oliveira *et al.*, 2016).

O processo de resistência pode ocorrer logo após a infecção pelo patógeno ou uma resistência posterior, induzida através de agente elicitador. Nesse sentido, quando se trata de um ataque do patógeno, a planta pode oferecer defesas rápidas, bioquímicas e estruturais para se proteger, ou pode, após um período de infecção, apresentar um estado

de indução pelos elicitores e, assim, o processo infeccioso pode ocorrer de maneira menos agressiva (Ragab *et al.*, 2009).

O estresse causado pelo ataque de patógenos desencadeia a formação de EROs, que se constituem em um sinal para que a planta comece a acionar mecanismos de defesa (Lehmann *et al.*, 2015). A partir disso, mecanismos de defesa antioxidantes são acionados, sinalizando respostas fisiológicas e biológicas. A defesa induzida pode ser estrutural, como formação de papila, lignificação de parede celular ou bioquímicos, como síntese e acúmulo de fitoalexinas, e alterações enzimáticas que agem diretamente na estrutura do patógeno e também em sítios de infecção, diminuindo o desenvolvimento da doença (Schwan-Estrada *et al.*, 2000).

Quando as plantas estão previamente expostas a um elicitador, em uma possível situação de colonização de um patógeno, as respostas de defesa dos tecidos vegetais são mais rápidas e eficientes. Para que um produto seja considerado um elicitador, deve conter uma ou mais moléculas que ativem as respostas de defesa da planta (Romeiro e Garcia, 2009).

Para ser considerado um indutor de resistência em plantas, o produto deve apresentar ausência de efeito tóxico sobre o patógeno, necessidade de intervalo de tempo entre a aplicação do agente indutor e as respostas de defesa, inespecificidade da proteção e ausência de relação entre efeito e doses do indutor (Hammerschmidt e Kuc, 2013).

Alguns produtos disponíveis no mercado, como fertilizantes, são considerados elicitores para processos de indução de resistência, pois podem reduzir o ataque de patógenos, assim como a severidade de algumas doenças. Estudos indicam que o fosfito (sal inorgânico de ácido fosforoso) utilizado para adubação inibe o crescimento micelial, a produção de esporos e aumenta a produção de fitoalexinas e proteínas de defesa (King *et al.*, 2010; Lobato *et al.*, 2010; Eshraghi *et al.*, 2011).

O elemento fósforo (P) não ocorre na natureza de maneira isolada, pois é muito reativo e combina rapidamente com os elementos oxigênio (O) e hidrogênio (H). A molécula denominada fosfito é resultado da ligação de P com três moléculas de O e uma de H, essa forma molecular provoca influência na solubilidade e absorção do elemento pelas plantas, assim como o seu efeito no metabolismo e na fisiologia vegetal. Ainda não existe evidências de que a planta utiliza a molécula de fosfito como fonte de P, por isso, o fosfito é utilizado como um ativador de defesa da planta (McDonald *et al.*, 2000; Lovatt e Mikkelsen, 2006).

Os fosfitos possuem alta solubilidade e mobilidade, sendo rapidamente absorvidos pelas plantas e translocados das folhas para as raízes. O uso dessas moléculas está relacionado à ativação de mecanismos de defesa, produção de fitoalexinas e substâncias naturais de autodefesa. Essas respostas fisiológicas podem estar relacionadas a alterações químicas e hormonais em plantas (Lovatt e Mikkelsen, 2006).

A ação do fosfito foi testada em alguns patógenos com efeito positivo, sendo eficaz na redução do crescimento micelial radial e na produção de biomassa em organismos fitopatogênicos e na prevenção da produção de oósporos em *Pythium aphanidermatum* e escleródios de *Athelia rolfsii* (Yáñez *et al.*, 2018). Além disso, exibiu um efeito positivo no controle da podridão da coroa, causada por *Phytophthora capsici* em abobrinhas (Gilardi *et al.*, 2020).

Atividades de compostos secundários, presentes em extratos brutos e óleos essenciais de plantas medicinais, também se enquadram dentro do controle alternativo, como indutores de resistência. Extratos e óleos de plantas com capacidade de controle de fitopatógenos são amplamente utilizados, devido à ação fungitóxica direta ou como elicitores, sendo consideradas fontes de compostos biologicamente ativos em diversos patossistemas (Stangarlin *et al.*, 2011).

O óleo essencial de melaleuca, proveniente de folhas da árvore *Melaleuca alternifolia* nativa da Austrália, possui ações já bem estudadas e estabelecidas, como: antisséptica, germicida e antifúngica, devido aos seus constituintes como  $\alpha$ -terpineno, p-cimeno, 1,8-cineol e terpineno-4-ol, entre outros (Teske e Trentini, 1997).

A ação do óleo essencial de *M. alternifolia* é explorada comercialmente por empresas de insumos agrícolas para controle de fungos, cujo produto comercial é caracterizado pela presença de três compostos fitoquímicos, sendo eles terpinel-4-ol,  $\gamma$ -19 terpineno  $\alpha$ -terpeno, nos quais podem ser observadas variações em suas quantidades, entretanto, de acordo com a ISO 4730/2017, as mesmas devem ser maiores que 30%, 10-28% e 5-13% (Cunha, 2019).

O produto comercial, contendo 23,8% de extrato de *M. alternifolia*, pode atuar como protetor contra ampla gama de fungos, inibindo germinação de esporos e crescimento micelial. Essas ações estão relacionadas com a integridade celular, inibição da respiração celular, transporte de elétrons e permeabilidade de membranas (Mihajlovic *et al.*, 2015).

## 2.7 Controle químico

Doenças fúngicas podem variar quanto a sua incidência e severidade, a depender das condições climáticas ideais para o patógeno, da suscetibilidade das culturas e as práticas agronômicas adotadas. Para o controle eficiente de doenças de plantas, algumas premissas são fundamentais, tais como a correta identificação do agente fitopatogênico, assim como os fatores que favorecem a sua ocorrência, sobrevivência e disseminação (Yorinori, 2000).

O uso de produtos químicos é amplamente indicado para controle de septorioses em diversas culturas. Inch (1978) relata uso de Mancozeb para o controle do fungo. São José (1993) relata que o controle pode ser feito através de duas a três aplicações de fungicidas à base de tiofanato metílico, misturado com clorotalonil ou tiabendazole. O uso de fungicidas à base de benzimidazol, geralmente, é recomendado, pois demonstra eficiência em danos causados por septoriose em viveiros e plantas de campo. No entanto, o uso em mistura ou alternado com fungicidas de diferentes modos de ação é a estratégia mais recomendada (Fisher e Rezende, 2008).

Embora alguns grupos de fungicidas tenham relatos de eficiência para controle do *S. passifloricola*, no Brasil, é inexistente registros de fungicidas junto ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento-MAPA, para controle do patógeno na cultura do maracujá (Agrofit, 2021).

Os produtos utilizados para controle químico de doenças em plantas possuem propriedades químicas que, quando em contato com tecidos vegetais, têm a função de proteger o desenvolvimento do agente fitopatogênico na planta. Essa proteção pode ocorrer em estágios diferentes da relação patógeno-hospedeiro (Nascimento e Santos, 2012). Dessa maneira, os fungicidas são classificados de acordo com a natureza química e o modo de ação contra fitopatógenos, podendo ser divididos em preventivos, curativos e erradicantes. E quanto à mobilidade, podem ser classificados como imóveis, mesostêmicos e sistêmicos (Reis *et al.*, 2010).

Os fungicidas classificados como preventivos possuem uma ação protetora que inibe a germinação e o crescimento micelial dos fungos; os curativos atenuam os danos logo após a infecção do patógeno, além de ação reparadora; já os erradicantes tem função direta na morte do fungo e não possui ação de regeneração e recuperação dos tecidos vegetais atacados (Reis *et al.*, 2016).

Em relação à mobilidade, os fungicidas classificados como imóveis são aqueles que não são absorvidos pelos tecidos vegetais, são os produtos químicos de contato que ficam restritos ao local onde foram depositados. Os mesostêmicos reagem com substâncias lipídicas da superfície da planta, conseguindo penetrar nos tecidos e apresentando prolongado efeito protetor; já os fungicidas de mobilidade sistêmica são absorvidos por folhas e raízes, sendo translocados por toda planta pelo sistema condutor dos vasos do xilema e floema (Stefanello, 2017).

Entre as classificações dos fungicidas, existem seus principais grupamentos químicos. Os fungicidas protetores são os produtos à base de enxofre, cobre, ditiocarbamato, dimetilditiocarbamato, dicarboximida, entre outros. Os erradicantes são os alifáticos alogenado e isotiocianatos de metila; e dentre os fungicidas curativos destacam-se os grupos químicos carboxamida, benzimidazol, triazol, fenilamida/acilalaninato, acetamina, estrobilurina, anilinopirimidina e benzotidiazol. Fungicidas mais modernos, como os triazóis e as estrobilurinas, apresentam interfaces para mecanismos de ação preventivo, curativo e erradicante/antiesporulante (Rodrigues, 2006).

### **2.7.1 Principais características das estrobirulinas**

As estrobirulinas revolucionaram o mercado de fungicida e mudaram o conceito de controle de doenças, pois esse grupamento químico oferece diversas ações e promovem efeitos fisiológicos positivos nas plantas. Resumidamente, a ação antifúngica das estrobilurinas ocorre inibindo a respiração mitocondrial da célula vegetal, bloqueando a transferência de elétrons no sítio de ação Qo, também conhecido como citocromo b<sub>566</sub> e, dessa maneira, inviabiliza a síntese de ATP, levando o patógeno à morte, em razão da insuficiência energética (Schock, 2015).

Além de atuarem de maneira preventiva e curativa, afetando a germinação de esporos, a penetração, o crescimento micelial e esporulação, e as estrobirulinas têm demonstrado outros benefícios fisiológicos. Estudos indicam aumento do teor de clorofilas, através da maior assimilação de nitrato, pela ativação de enzimas NADH-nitrato redutase; maior eficiência de CO<sub>2</sub> e, conseqüentemente, maiores taxas fotossintéticas e redução da respiração celular; produção do hormônio etileno, que está associado à senescência e abscisão foliar, podendo aumentar o período em que a planta se mantém

fotossinteticamente ativa; maior crescimento em altura e diâmetro, área foliar e matéria seca; e, conseqüentemente, aumento na produtividade de culturas agrônômicas (Venancio *et al.*, 2003; Fagan *et al.*, 2010; Schock, 2015).

### **2.7.2 Principais características dos triazóis**

Os fungicidas triazóis, de mobilidade sistêmica, são absorvidos pela planta e translocados de forma acrópeta. Desenvolvidos em meados da década de 60, a partir da molécula orgânica 1,2,4-triazol, possuem, além da ação antifúngica, propriedades biorreguladoras que protegem a planta dos danos causados pelo frio, calor, seca e pelo dióxido de enxofre (De Camargo *et al.*, 2013).

É considerado um fungicida de elevada fungitoxidade, podendo ser de ação protetora e erradicante, que impedem a germinação de esporos, formação de tubo germinativo, crescimento micelial, formação de apressório e haustório e a esporulação. Os principais produtos encontrados que apresentam como princípio ativo os triazóis são ciproconazol, tebuconazol, flutriafol, epoxiconazol, tetraconazol, fluquinconazol, miclobutanil, metconazol, difenoconazol, propiconazol e triadimenol (Rodrigues, 2006).

O efeito dos triazóis, quando aplicados em tecidos vegetais, faz com que o agente fúngico acumule esteróis, como 4,4-dimetil e 4 $\alpha$ -metil, que possuem radical 14 $\alpha$ -metil, o qual promove a inativação do processo de demetilação do lanosterol até compostos intermediários, precursores de ergosterol. Esse processo fisiológico faz com que o fungicida ocupe os sítios ativos que são destinados às enzimas 14 $\alpha$ demetilase ao citocromo P-450, ocorrendo processo de demetilação. Com o aumento dos compostos intermediários e ausência do ergosterol, ocorre uma desorganização celular e formação de membranas alternativas. Esse processo causa danos nas membranas do fungo, alterações morfológicas, turgescência celular, vacuolização excessiva, septação incompleta e aparecimento de vesículas (Smith, 2002; Rodrigues, 2009).

### **2.7.3 Principais características dos benzimidazóis**

Os fungicidas do grupo químico dos benzimidazóis possuem a característica de se tornarem ativos a partir da transformação em carbendazim. Existem os benzimidazóis

típicos, que possuem um anel heterocíclico (Carbendazim); e os atípicos, sem o anel heterocíclico, mas que também converte a carbendazim (Tiofato metílico). Embora o carbendazim típico tenha uma alta eficiência como fungicida, os produtos à base de tiofano metílico possuem altas taxas de absorção pelas folhas e melhor translocação sistêmica (Smith, 2002).

O princípio de ação dos benzimidazóis está na interrupção do ciclo mitótico dos fungos, agindo diretamente na divisão celular. Esse processo ocorre pelo impedimento da formação da placa metafásica, pois o benzimidazol apresenta uma alta afinidade pelas proteínas tubulinas, não permitindo a fusão mitótica, e essa falha na separação de núcleos resulta na morte celular (Rodrigues, 2009).

Os benzimidazóis são considerados seletivos cuja base da seletividade ainda é desconhecida, mas acredita-se que tem uma relação com as estruturas dos sítios de ligação, permitindo que pequenas alterações na composição de aminoácidos proporcionem seletividade entre as espécies vegetais. No entanto, esse também é o ponto em que se confere resistência aos fungicidas desse grupamento químico (Hewitt, 1998).

Para que a atividade antifúngica dos benzimidazóis seja eficiente, é necessário grande atenção ao pH do meio. Valores muito baixos ou muito alcalinos de pH tendem a oferecer uma menor eficiência do fungicida (Smith, 2002).

Os benzimidazóis são fungicidas de mobilidade sistêmica, com atuação protetora e curativa. São absorvidos pelos tecidos vegetais e translocados de forma acrópeta, inibem o desenvolvimento de tudo germinativo, formação de apressórios e crescimento micelial. Além disso, são eficientes para fungos Ascomicetos, mitosporicos e basidiomicetos (Rodrigues, 2009).

### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

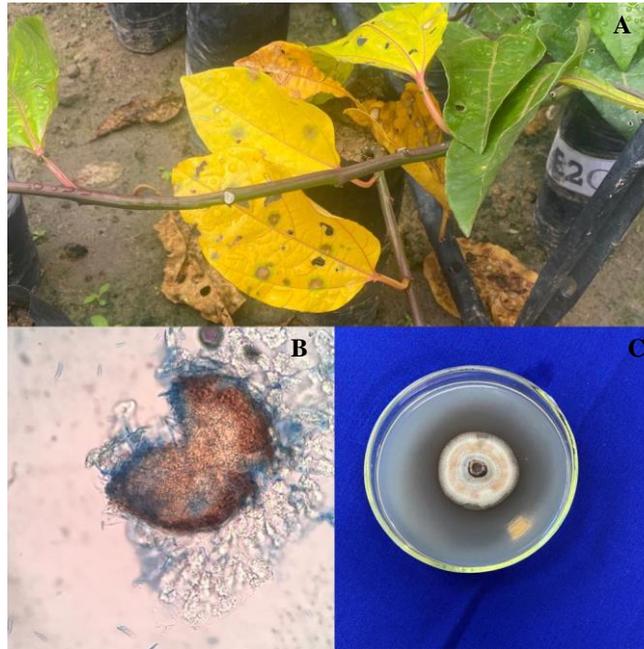
#### **3.1 Local do experimento**

O estudo foi realizado no Laboratório de Fitopatologia e casa de vegetação pertencente ao Departamento de Fitotecnia e Zootecnia da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB, campus de Vitória da Conquista, Bahia. A caracterização molecular do patógeno foi realizada em colaboração com o Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

#### **3.2 Obtenção dos isolados**

Os isolados do fungo *S. passifloricola* foram obtidos a partir de plantas de maracujá (*Passiflora edulis* Sims), naturalmente infectadas, adquiridas do campo experimental da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – UESB. As folhas com sintomas típicos da doença septoriose, apresentando pequenas lesões dispersas pelo limbo, circulares ou levemente angulares, de contorno definido, acastanhadas, com uma auréola amarelada, foram coletadas e mantidas em condições de câmara úmida no Laboratório de Fitopatologia – UESB, para desenvolvimento da esporulação do fungo. Com auxílio de microscópio estereoscópico, foram coletados fragmentos das lesões e transferidas para placas de Petri contendo o meio batata dextrose ágar (BDA). As placas foram mantidas em incubação, em câmara de crescimento ajustada à temperatura de 25°C, e fotoperíodo de 12 horas, até crescimento das estruturas do fungo. Foram realizadas repicagens para multiplicação e manutenção do isolado (Figura 1).

A identificação do fungo causador da septoriose em maracujazeiro foi realizada por meio da observação de estruturas reprodutivas do patógeno, com o auxílio do microscópio óptico, de acordo com a descrição feita por Quaedvlieg *et al.* (2013).



**Figura 1.** Plantas de maracujá com sintomas de septoriose (A), identificação do picnídio do fungo *Septoria passifloricola* pelo microscópio óptico em aumento de 100x (B) e colônia fúngica isolada em placa de Petri (C).

### 3.3 Produção de mudas de maracujá

Mudas de maracujá (*Passiflora edulis* Sims) foram produzidas em casa de vegetação, por meio de semeadura em sacos plásticos pretos de polietileno, com furos na parte lateral inferior, nas dimensões de 10 x 15 cm, com substratos devidamente adubados. Foram semeadas duas sementes em cada saco plástico e, posteriormente, foi realizado o desbaste, deixando apenas a planta mais vigorosa. As adubações e irrigações foram realizadas de acordo com a necessidade da cultura.

### 3.4 Teste de patogenicidade

Mudas saudáveis de maracujá foram utilizadas no teste de patogenicidade. Para a inoculação do patógeno, foi preparada uma suspensão de conídios, a partir da raspagem de colônias do fungo em placas de Petri e diluição em água destilada. Foi utilizado um pulverizador manual para inoculação da suspensão sobre as mudas. Após a inoculação, as mudas foram mantidas em condições de câmara úmida. Como testemunha, mudas saudáveis foram mantidas sob as mesmas condições das mudas inoculadas. Após

manifestação dos sintomas, estruturas reprodutivas do fungo foram observadas nos tecidos vegetais e coletadas para novo isolamento em meio de cultura BDA.

### **3.5 Caracterização morfológica**

Isolados do fungo *S. passifloricola*, obtidos de tecidos infectados de plantas de maracujá, foram utilizados para a caracterização morfológica. Culturas puras foram estabelecidas em placas com meio BDA e mantidas a 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas de claro e escuro para o aparecimento das estruturas reprodutivas do patógeno. As lâminas para observação em microscopia foram montadas utilizando-se fucsina ácida como corante, sendo depositadas sobre ela estruturas fúngicas do *S. passifloricola*. Cem conídios foram examinados quanto à forma, tamanho, número de células, cor e apêndices, sob um microscópio ótico de luz Axiostar Plus (Carl Zeiss®, Alemanha).

### **3.6 Caracterização molecular**

A biomassa dos fungos foi obtida a partir de culturas em BDA, mantidas a 28 °C, por até sete dias em placas de Petri. Com auxílio de uma alça de platina, todo o micélio foi retirado e transferido para microtubos de 2 mL, com tampa de rosca, acrescidos de 0,5 g de contas de vidro (glass beads) com dois diâmetros diferentes na proporção de 1:1 (acid-washed, 150-212 µm and 425-600 µm; Sigma, U.S. sieve). Foi realizada a extração do DNA genômico, seguindo a metodologia proposta por Oliveira *et al.* (2016), que inclui homogeneização do material em tampão CTAB 2%, trituração por agitação em alta velocidade através de um FastPrep, uma lavagem com clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), além de precipitação em isopropanol, lavagem em etanol 70% e ressuspensão em 50 µL de água ultrapura.

#### **3.6.1 Amplificação, purificação e sequenciamento do DNA**

Para amplificação do fator de alongação 1alfa (EF1 $\alpha$ ), foram utilizados os iniciadores EF1-728F (Carbone e Kohn, 1999) e EF-2 (O'Donnell *et al.*, 1998). A PCR (*Polymerase Chain Reaction*) foi realizada com um volume final de 50 µL, os parâmetros para amplificação e as concentrações dos reagentes incluem os dNTPs, a Taq DNA polimerase, os iniciadores, água ultrapura e o tampão de reação (Oliveira *et al.*, 2014b).

Controles negativos contendo todos os componentes, exceto DNA, foram utilizados em cada procedimento para detectar possíveis contaminações.

Todos os produtos de PCR foram analisados por eletroforese em gel de agarose 1% cujas amostras foram coradas pela adição de GelRed<sup>®</sup>. Os produtos de PCR, oriundos dos fungos endofíticos, foram purificados utilizando-se a enzima ExoSAP<sup>®</sup> de acordo com as recomendações do fabricante. Posteriormente, as amostras foram enviadas para a Plataforma Multiusuária de Sequenciamento de DNA do Centro de Biociências da Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

### 3.6.2 Análises filogenéticas

Para a análise filogenética, as sequências obtidas foram preliminarmente comparadas com sequências similares depositadas no *GenBank*, utilizando a ferramenta BLASTn, e, posteriormente, foram alinhadas e editadas no MEGA v.7 (Kumar *et al.*, 2016). A análise de Máxima Verossimilhança (1.000 bootstraps) foi realizada com PhyML (Guindon e Gascuel, 2003), executados a partir do programa Topali 2.5 (Milne *et al.*, 2004).

### 3.7 Efeito *in vitro* de diferentes fungicidas e indutores de resistência no crescimento micelial do fungo *Septoria passifloricola*

Foram utilizados cinco diferentes fungicidas e dois indutores de resistência para os testes *in vitro* no crescimento micelial do fungo *S. passifloricola* (Tabela 1).

**Tabela 1** – Fungicidas e indutores de resistência utilizados nos testes *in vitro* e *in vivo* no controle de *Septoria passifloricola*

Grupo químico dos fungicidas	Classe	Tipo de formulação	Concentração do i.a (g/L)
Azoxistrobina + difenoconazol	Fungicida sistêmico	Suspensão concentrada	200 g/L e 125 g/L
Tiofanato-metílico	Fungicida sistêmico	Grânulos dispersíveis em água	85 g/kg

Trifloxistrobina + tebuconazol	Fungicida mesostêmico e sistêmico	Suspensão concentrada	100 g/L e 200 g/L
Tebuconazol	Fungicida sistêmico	Concentrado emulsionável	200 g/L
Difenoconazol	Fungicida sistêmico	Concentrado emulsionável	250 g/L
Composição dos indutores de resistência	Classe	Tipo de formulação	Concentração do i.a (g/L)
Ácido fosforoso e carbonato de potássio	Fertilizante mineral misto	Fluido-Solução verdadeira	560 g/L e 280 g/L
Extrato de <i>Malaleuca alternifolia</i>	Fungicida e bactericida de ação de contato e mesostêmico	Concentrado emulsionável	222,5 g/L

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), com 36 tratamentos, sendo sete produtos químicos (azoxistrobina + difenoconazol, tiofanato-metílico, trifloxistrobina + tebuconazol, tebuconazol e difenoconazol), cinco concentrações (1, 10, 100, 500 e 1000 ppm), mais a testemunha, com seis repetições, sendo cada parcela constituída por uma placa de Petri.

Os produtos químicos foram diluídos em série e ajustados para as concentrações de 1, 10, 100, 500 e 1000 ppm de ingrediente ativo dos fungicidas, em meio de cultura BDA, fundente a 45 a 50 °C. Foram vertidos 20 mL do meio, contendo cada produto químico e cada concentração em placas de Petri de 90 milímetros de diâmetro. Após o resfriamento, foi transferido, para o centro de cada placa, um disco de micélio de sete milímetros de diâmetro, crescido em BDA do fungo *S. passifloricola*, previamente isolados, conforme descrito anteriormente. Placas contendo apenas o meio de cultura e *S. passifloricola* foram utilizadas como testemunha (Figura 2). As placas foram incubadas em BOD, a uma temperatura aproximada de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas, por um período de 30 dias.



**Figura 2.** Transferência de disco de micélio do fungo *Septoria passifloricola* em placas de Petri para testes *in vitro*.

As avaliações foram realizadas medindo-se o diâmetro da colônia do *S. passifloricola* com o auxílio de uma régua milimetrada, em dois sentidos transversais, obtendo-se a média do crescimento micelial da colônia. Em seguida, foi calculada a porcentagem de inibição (%I) do *S. passifloricola* dos tratamentos em relação à testemunha, utilizando a seguinte fórmula:

$$I = (C-T)/C \times 100$$

Em que:

% I = Porcentagem de inibição;

C = Diâmetro do crescimento micelial da testemunha;

T = Diâmetro do crescimento micelial do tratamento.

Correlacionando a porcentagem de inibição com o logaritmo da concentração do fungicida, foi obtido, graficamente, o valor aproximado da dose efetiva mediana (ED50), ou seja, a concentração do produto químico necessária para inibir em 50% o crescimento micelial do fungo. Após o cálculo da ED50, os fungicidas foram classificados em quatro categorias de eficiência, segundo escala de Edgington *et al.* (1971), em que:

a) ED50 < 1 ppm: altamente eficiente (AE);

- b) ED50 1 - 10 ppm: moderadamente eficiente (ME);
- c) ED50 10 - 50 ppm: pouco eficiente (PE);
- d) ED50 > 50 ppm: ineficiente (I)

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias submetidas à análise de regressão, utilizando o programa SISVAR, versão 5.6.

### **3.8 Efeito *in vivo* de diferentes fungicidas e indutores de resistência na doença causada pelo fungo *Septoria passifloricola* em maracujazeiro**

Os fungicidas e indutores de resistência, testados em ensaios *in vitro* (Tabela 1), foram avaliados também em condições de casa de vegetação (*in vivo*), levando-se em consideração os melhores resultados de dosagem do teste *in vitro* e recomendação de bula de cada produto.

Os fungicidas pertencentes aos grupos químicos azoxistrobina + difenoconazol, tiofanato-metílico, trifloxistrobina + tebuconazol, tebuconazol e difenoconazol foram utilizados nas concentrações de 50, 70, 60, 80 e 20 mL /100 L de água, respectivamente.

O indutor de resistência com composição à base de ácidos fosforoso e carbonato de potássio foi utilizado na concentração de 200 mL /100 L de água, já a base de extrato de *Malaleuca alternifolia* foi utilizado na concentração de 150 mL /100 L de água.

#### **3.8.1 Tratamentos com fungicidas**

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados (DBC), com quatro repetições e cinco plantas por parcela, em um esquema fatorial 5 x 4, sendo os tratamentos formados por cinco fungicidas (azoxistrobina + difenoconazol, tiofanato-metílico, trifloxistrobina + tebuconazol, tebuconazol e difenoconazol) e quatro épocas de coleta foliares (7, 14, 21, 28 e 35 dias após a inoculação do fungo) e plantas-controle.

Com auxílio de um pulverizador manual, as mudas de maracujá foram tratadas com os diferentes fungicidas, adotando-se um volume de calda de aproximadamente 50 mL muda<sup>-1</sup> (Figura 3). Foram realizadas quatro aplicações dos fungicidas, sendo a primeira 24 horas antes da inoculação do fungo e mais três, com intervalos de 7 dias.



**Figura 3.** Aplicação dos tratamentos em plantas de maracujazeiro.

Para inoculação do patógeno *S. passifloricola*, foi preparada uma suspensão de conídios, na concentração de  $1,6 \times 10^5$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ . Utilizou-se um pulverizador manual para aplicação da suspensão (Figura 4 A e B) e, após a inoculação, as mudas foram mantidas em condições de câmara úmida (Figura 4 C e D).



**Figura 4.** Inoculação do fungo *Septoria passifloricola*, com auxílio de um pulverizador manual (A e B), e plantas inoculadas mantidas em condições de câmara úmida (C e D).

### **3.8.2 Tratamentos com indutores de resistência**

O delineamento utilizado foi em blocos casualizados (DBC), com quatro repetições e cinco plantas por parcela, em um esquema fatorial 2 x 2 x 4. Os tratamentos foram formados por dois produtos indutores de resistência (fosfito de potássio e extrato de *M. alternifolia*), número de aplicações (plantas tratadas com uma aplicação e plantas tratadas com duas aplicações), quatro épocas de coletas foliares (1, 2, 3 e 4 dias após inoculação do fungo) e plantas-controle.

Com auxílio de um pulverizador manual, as mudas de maracujá foram tratadas com os produtos indutores de resistência, adotando-se um volume de calda de aproximadamente 50 mL muda<sup>-1</sup>. A primeira aplicação de ambos os indutores foi realizada 24 horas antes da inoculação do fungo e, em apenas um grupo de plantas, foi realizada a segunda aplicação dos dois indutores de resistência, com intervalo de 7 dias em relação à primeira aplicação.

Para inoculação do patógeno *S. passifloricola*, foi preparada uma suspensão de conídios, conforme descrito anteriormente, na concentração de  $1,6 \times 10^5$  conídios mL<sup>-1</sup>. Utilizou-se um pulverizador manual para aplicação da suspensão e, após a inoculação, as mudas foram mantidas em condições de câmara úmida.

### **3.8.3 Avaliações**

#### **3.8.3.1 Severidade de sintomas da doença**

Para avaliar o efeito dos tratamentos quanto à severidade da doença em planta de maracujá, foram utilizados parâmetros de avaliação da severidade da doença por meio de escala de notas. A escala foi construída por meio da observação do avanço da doença em folhas de maracujazeiro afetados pelo patógeno (Figura 5), adotando-se notas de 1 a 5:

- 1 - Folhas sem sintomas;
- 2- Folhas com lesões menores que 2 mm;
- 3- Folhas com lesões maiores que a 2 mm com halo amarelado;
- 4- Folhas com lesões maiores que 2 mm e amarelecimento;
- 5- Desfolha.

As mudas foram avaliadas a partir do surgimento dos primeiros sintomas da doença e as demais avaliações foram realizadas com intervalos de 7 dias, contabilizando três avaliações de severidade.



**Figura 5.** Escala de notas da severidade da doença causada pelo fungo *Septoria passifloricola*, em que: 1- Folhas sem sintomas; 2- Folhas com lesões menores que 2 mm; 3- Folhas com lesões maiores que a 2 mm com halo amarelado; 4- Folhas com lesões maiores que 2 mm e amarelecimento; 5- Desfolha.

### 3.8.3.2 Número de folhas

A contagem do número de folhas foi realizada em cada planta de maracujá para determinação da abscisão. A primeira contagem foi realizada na implantação do experimento e as demais com intervalos de 7 dias, sempre antes dos tratamentos, totalizando 4 avaliações durante o período do experimento.

### 3.8.3.3 Características morfofisiológicas relacionadas ao crescimento

A altura de planta foi determinada utilizando-se régua graduada, posicionada paralelamente ao caule, medindo-se desde o solo até a gema apical do fuste.

As raízes foram retiradas cuidadosamente e o excesso de terra retirado em água corrente; posteriormente, com o auxílio de uma régua milimetrada, o comprimento foi mensurado.

A área foliar total foi determinada com o auxílio de um medidor de área foliar – *Area Meter* (LICOR, modelo LI-3100).

A massa seca de folhas, caule e raízes foi obtida a partir da secagem de cada uma dessas partes em estufa, com circulação forçada de ar, a  $70\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5$ , até atingir massa constante, seguida de pesagem em balança de precisão.

#### 3.8.3.4 Trocas gasosas foliares

Foram avaliadas as trocas gasosas em folhas completamente expandidas e maduras, com um sistema portátil de medição de fotossíntese, analisador de gases por infravermelho, Li-6400 XT (LI-COR Biosciences Inc., Nebraska, USA). A taxa fotossintética líquida (PN), condutância estomática (gS), transpiração (E), razão entre as concentrações internas e externas de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ) foram medidas sempre das 8h30min às 11h30min, sob luz saturante artificial de  $1000\text{ }\mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2}\text{ s}^{-1}$  e concentração atmosf\u00e9rica de  $\text{CO}_2$  ( $C_a$ ) de  $\pm 390\text{ }\mu\text{mol mol}^{-1}$  (Figura 9).



**Figura 6.** Avaliação de trocas gasosas das plantas de maracuj\u00e1 aos 25 dias ap\u00f3s inocula\u00e7\u00e3o do fungo *Septoria passifloricola*.

### **3.8.3.5 Extravasamento de eletrólitos**

A permeabilidade das membranas foi determinada por meio do extravasamento de eletrólitos. Para isso, coletou-se 10 discos foliares, acondicionando-os em béqueres contendo 10 mL de água destilada. As amostras foram mantidas em repouso por 24 horas, em temperatura ambiente, e após esse período foram realizadas as primeiras leituras (C1), utilizando condutivímetro portátil. Em seguida, colocou-se as amostras em banho maria, a 80 °C, por 20 minutos, e aferiu-se a condutividade final (C2) após o resfriamento das amostras. A permeabilidade relativa foi calculada pela relação  $[C1/(C1 + C2)] \times 100$  (Tarhanen *et al.*, 1999).

### **3.8.3.6 Teores de pigmentos fotossintéticos**

Os teores de pigmentos cloroplastídicos, clorofila a (Chl a), clorofila b (Chl b) e carotenoides (Car), foram determinados em folhas completamente maduras. Discos foliares de 5 mm de diâmetro foram coletados (Figura 7 A) e, imediatamente, incubados em tubos de vidro revestidos com papel alumínio, contendo 4 mL de acetona a 80% (V/V), por 48 h em temperatura ambiente (Figura 7 B). A absorvância dos extratos foi determinada em espectrofotômetro, nos comprimentos de onda de 480, 649 e 665 nm. Os teores de pigmentos cloroplastídicos, com base nos valores de absorvância, foram estimados, utilizando-se das equações propostas por Wellburn (1994).



**Figura 7.** Corte de discos foliares de maracujá (A) e deposição dos discos em frascos contendo acetona (B) para determinação dos teores de pigmentos.

### **3.8.3.7 Atividade das enzimas peroxidase do guaiacol (GPX) e polifenoloxidase (PPO)**

Foram coletadas amostras de folhas, retiradas do terceiro par folha completamente expandida e madura que, imediatamente, foram congeladas em nitrogênio líquido, liofilizadas em equipamento Liofilizador, modelo Enterprise I. Logo após, as amostras foram armazenadas em freezer  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figura 8 A). As leituras foram realizadas em espectrofotômetro leitor de microplacas, modelo *Expert Plus* (Figura 8 B).



**Figura 8.** Liofilização de amostras de folhas de maracujá para determinação enzimática (A) e leitura das amostras em equipamento espectrofotômetro de microplacas.

A atividade da peroxidase do guaiacol (GPX) foi determinada de acordo com o método de Pirovani *et al.* (2008). Foram utilizadas microplacas com 96 poços, com capacidade para 280  $\mu\text{L}$ , contendo 140  $\mu\text{L}$  de tampão de reação peroxidase 2x [40 mmol L<sup>-1</sup> de guaiacol, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a 0.06% e fosfato de sódio (20 mmol L<sup>-1</sup>, pH 6.0) ], 139  $\mu\text{L}$  de tampão fosfato (50 mmol L<sup>-1</sup>, pH 6.0) e 1  $\mu\text{L}$  de extrato enzimático, previamente diluído. A variação da absorbância a 470 nm foi monitorada durante 60 s de reação, a 25 °C (Figura 9).

Para a atividade de polifenoloxidase, determinou-se pela conversão do catecol em quinona. Amostras de tecido foliar foram maceradas, homogeneizadas em tampão em 2,0 ml de tampão acetato de sódio 100 mM, em pH 5,0. Foi utilizado o substrato catecol na concentração de 20 mM, dissolvido em tampão fosfato de sódio 100 mM, em pH 6.8. Foram utilizadas microplacas com 96 poços e, segundo metodologia de Duangmal e Apenten (1999), a leitura em espectrofotômetro (420 nm) foi feita de forma direta, por um período de 2 minutos (Figura 9).



**Figura 9.** Etapas para determinação de atividades enzimáticas. Maceração das amostras vegetais na presença de nitrogênio líquido (A), transferência de amostras para tubos eppendorf (B), centrifugação de amostras (C), montagem da microplaca com as amostras e tampões de reação (D) e leitura em espectrofotômetro das amostras (E).

### 3.9 Análise estatística dos dados

Os dados coletados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o teste F ao nível de 5% de probabilidade. As médias foram comparadas entre si pelo Teste de Tukey ao nível de 5 %.

As análises foram realizadas utilizando-se o sistema computacional SISVAR (Ferreira, 2011).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Caracterização morfológica e molecular do *S. passifloricola*

Durante o período do estudo, foram realizados vários isolamentos e repicagens de colônias do fungo *Septoria passifloricola* em aproximadamente 200 placas de Petri. Os isolados foram obtidos a partir de folhas de maracujazeiro com sintomas característicos de septoriose (Figura 10A). Com o auxílio de um estereomicroscópio, foi possível observar as lesões causadas pelo fungo nas folhas (Figura 10B), de onde foram retiradas as estruturas de reprodução do fungo para isolamento e obtenção das culturas puras.



**Figura 10.** Sintomas de macha causada pelo fungo *Septoria passifloricola* em folha de maracujá (A) e picnídios do *Septoria passifloricola* presente na lesão na folha de maracujá (B).

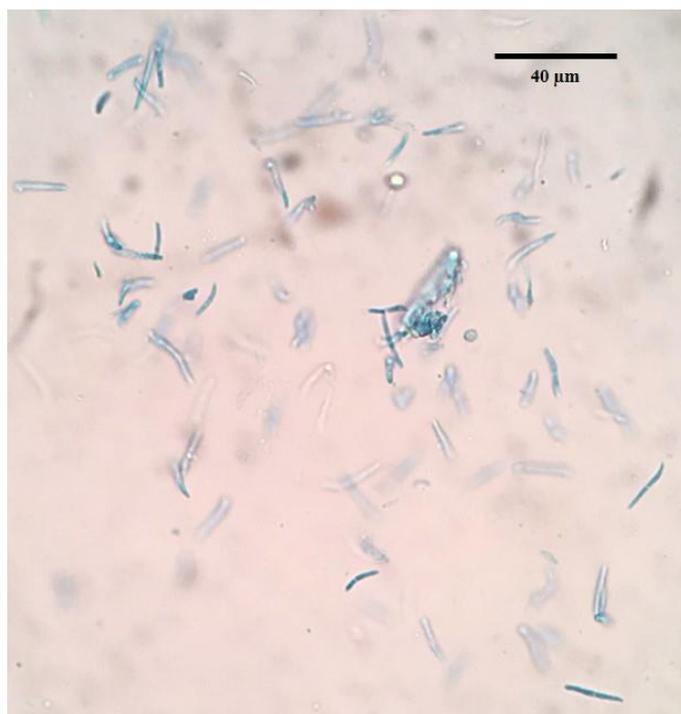
Quanto ao teste de patogenicidade, todas as plantas inoculadas com suspensão de esporos do fungo *S. passifloricola* apresentaram sintomas, aproximadamente, 15 dias após a inoculação. A reprodução dos sintomas nas plantas de maracujá corresponde aos mesmos sintomas característicos de plantas observadas, que foram infectadas no campo. Com manchas esparsas, regulares e de forma circular ou levemente angulares, de cor creme-clara a marrom-clara, bordos marrom-escuros e um halo amarelado, característico

de manchas de septoriose, no centro das lesões, foi observada formação de picnídios (Figura 11). Ao final dos testes de patogenicidade, o fungo *S. passifloricola* foi reisolado, comprovando a ação patogênica em maracujazeiro.



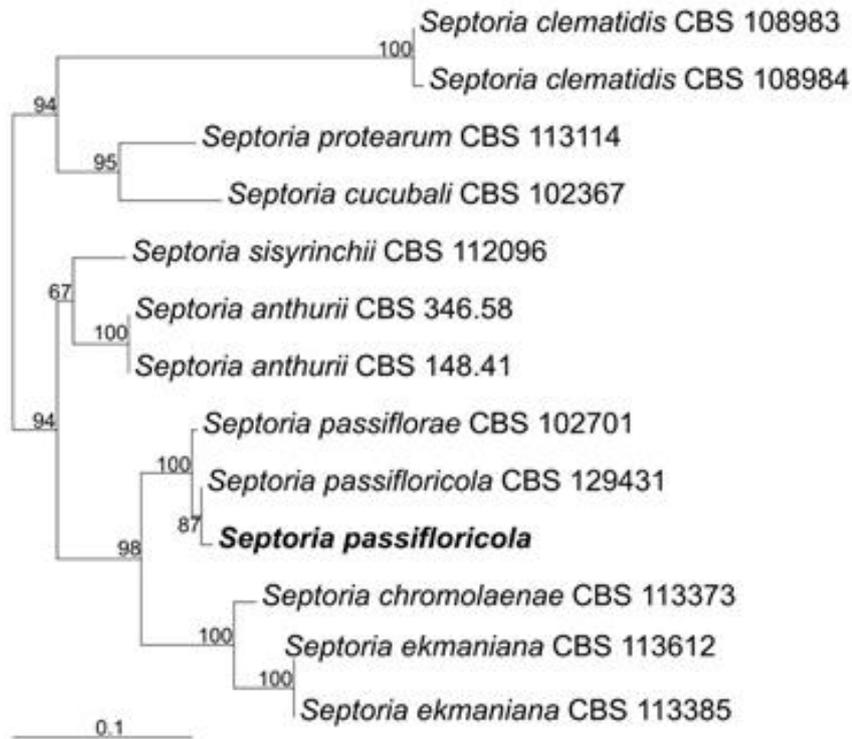
**Figura 11.** Plantas de maracujá com sintomas de septoriose após inoculação com fungo *Septoria passifloricola* em teste de patogenicidade.

As estruturas de 100 conídios do fungo *S. passifloricola* foram medidos em microscópio de luz, com um aumento de 100 vezes, cujos tamanhos variariam de 13,0-20,0  $\mu\text{m}$  de comprimento, 1,0-1,5  $\mu\text{m}$  de largura (Figura 12).



**Figura 12.** Conídios do fungo *Septoria passifloricola* em meio BDA (aumento 100x).

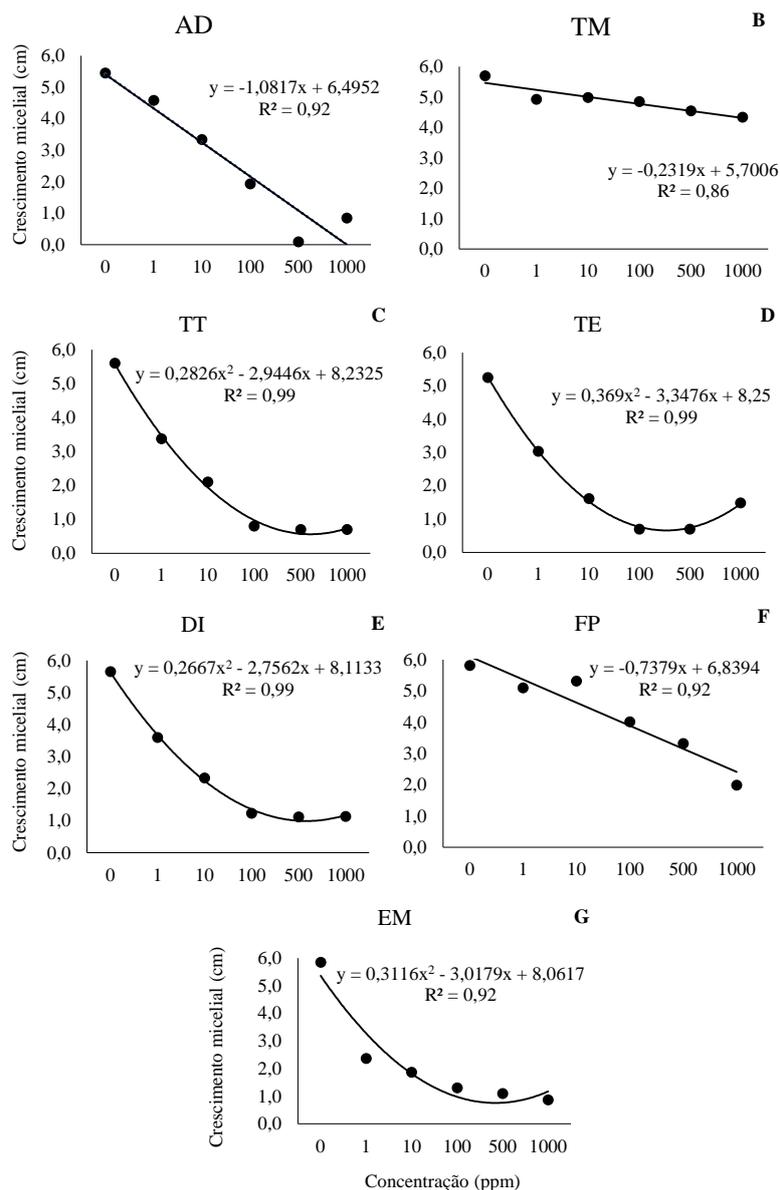
A análise molecular, realizada a partir da amplificação do fator de alongação 1alfa ( $EF1\alpha$ ) utilizando os iniciadores EF1-728F (Carbone e Kohn, 1999) e EF-2 (O'Donnell *et al.*, 1998), permitiu identificar o isolado como *S. passifloricola*. As sequências obtidas foram utilizadas para construção de uma árvore filogenética (Figura 13) e, ao comparar as sequências obtidas com as sequências depositadas no *GenBank*, utilizando a ferramenta BLASTn e editadas, o isolado demonstrou 100% de identidade com outros isolados de *S. passifloricola*.



**Figura 13.** Árvore filogenética com sequência de isolados de *Septoria passifloricola* considerando o fator de alongação 1alfa (EF1 $\alpha$ ).

#### 4.2 Inibição do crescimento micelial *in vitro* do fungo *Septoria passifloricola* na presença de diferentes fungicidas e indutores de resistência

A sensibilidade do crescimento micelial dos isolado de *S. passifloricola*, em diferentes concentrações dos produtos químicos à base de azoxistrobina + difenoconazol (AD), tiofanato-metilico (TM), trifloxistrobina + tebuconazol (TT), tebuconazole (TE), difenoconazol (DI), fosfito de potássio (FP) e extrato de *M. alternifolia*, estão apresentados na Figura 14.



**Figura 14.** Crescimento micelial *in vitro* do fungo *Septoria passifloricola* em diferentes concentrações dos produtos azoxistrobina + difenoconazol (AD), tiofanato-metílico (TM), trifloxistrobina + tebuconazol (TT), tebuconazol (TE), difenoconazol (DI), fosfito de potássio (FP) e extrato de *M. alternifolia* (EM).

Houve interação significativa de todos os produtos testados e suas respectivas concentrações para o crescimento micelial de *S. passifloricola*. Na análise de regressão, foi possível verificar que, para os tratamentos AD, TM, e FP, houve ajuste linear, com redução de 84, 24 e 66%, respectivamente, dos tratamentos com a maior concentração (1000 ppm) em relação às testemunhas, para o crescimento micelial do fungo *S. passifloricola* (Figura 14 A, B e F).

Os tratamentos TT, TE, DI e EM se ajustaram ao modelo de regressão quadrático para o crescimento micelial do fungo *S. passifloricola*, com pontos de mínimo de 10,43; 9,07; 10,33 e 9,70 ppm, respectivamente (Figura 14 C, D, E e G).

A média geral de crescimento micelial das testemunhas foi de 5,6 cm. Conforme as equações de regressão, os tratamentos AD, TT, TE, DI e EM se destacaram, devido à utilização de menores dosagens para a inibição de 50% do crescimento micelial do fungo (ED50) em relação à testemunha, sendo considerados, de acordo com escala de Edgington *et al.* (1971), medianamente eficientes na redução do crescimento micelial (Tabela 2).

**Tabela 2** – Equações de regressão, valores médios de ED50 (concentração suficiente para inibir 50% do crescimento micelial) e eficiência dos produtos, em relação ao crescimento micelial *in vitro* do fungo *Septoria passifloricola* na presença de diferentes produtos químicos

Produtos	Equações de regressão	ED50	E <sup>1</sup>
Azoxistrobina + Difenconazol	$y = -1,0817x + 6,4952$	1,64	ME
Tiofanato-metílico	$y = -0,2319x + 5,7006$	11,43	PE
Trifloxistrobina + Tebuconazol	$y = 0,2826x^2 - 2,9446x + 8,2325$	1,9	ME
Tebuconazol	$y = 0,369x^2 - 3,3476x + 8,25$	1,8	ME
Difenconazol	$y = 0,2667x^2 - 2,7562x + 8,1133$	1,92	ME
Fosfito de potássio	$y = -0,7379x + 6,8394$	12,4	PE
Extrato de <i>M. alternifolia</i>	$y = 0,3116x^2 - 3,0179x + 8,0617$	0,81	AE

<sup>1</sup>Eficiência dos produtos químicos sobre *S. passifloricola*. AE (altamente eficiente), ME (moderadamente eficiente) e PE (pouco eficiente).

As médias para o crescimento micelial, na concentração de 10 ppm dos tratamentos AD, TT, TE, DI e EM, foram de 3,5, 2,15, 1,8, 2,3 e 1,87 cm, respectivamente. Esses valores representaram, em porcentagem, inibição do crescimento micelial em relação à testemunha, 36,36; 61,26; 68,42; 58,04 e 69,75%, para o tratamento fungicida na concentração de 10 ppm, para os respectivos tratamentos AD, TT, TE, DI e EM (Tabela 3).

**Tabela 3** – Valores médios de percentagem de inibição do crescimento micelial (I%) de *Septoria passifloricola* na presença de diferentes produtos químicos

Produtos	Concentração (ppm)				
	1	10	100	500	1000
Azoxistrobina+Difenoconazol	18,18	36,36	65,45	83,64	84,55
Tiofanato-metílico	14,04	12,28	14,04	21,05	23,68
Trifloxistrobina+Tebuconazol	38,74	61,26	85,59	87,39	87,39
Tebuconazol	42,98	68,42	87,72	87,72	87,72
Difenoconazol	35,71	58,04	76,79	81,25	79,46
Fosfito de potássio	9,40	13,68	29,49	44,44	65,81
Extrato de <i>M. alternifolia</i>	64,71	69,75	78,15	81,51	85,71

Para as concentrações de 100, 500 e 1000 ppm, as médias de crescimento micelial com tratamento AD decresceram de 1,9; 0,9 e 0,8 cm, respectivamente. No tratamento DI, na concentração de 500 ppm, obteve-se o menor crescimento micelial, com média de 1,05 cm, representando 81,25% de inibição. Já os tratamentos TT e TE, a partir da concentração de 100 ppm, não houve crescimento micelial, mantendo a média de 0,7 cm e porcentagem de inibição maior que 87%.

O tratamento com EM apresentou os melhores resultados de inibição do crescimento micelial, na menor concentração, de 1 ppm, obtendo-se a ED50, em relação à testemunha, com média de 2,1 cm. Já no tratamento com o FP, a ED50 foi atingida com concentração maior que 500 ppm, sendo que a redução do crescimento micelial foi de 43% na concentração de 500 ppm em relação à testemunha (Tabela 2 e 3).

De acordo com a equação de regressão, o tratamento com o fungicida TM demonstrou menor eficiência nos testes *in vitro*. No entanto, as médias de crescimento micelial foram de 5,0, 4,9, 4,9, 4,5 e 4,3 cm, para as concentrações de 1, 10, 100, 500 e 1000 ppm, respectivamente; sendo que, com a maior concentração, de 1000 ppm, a inibição foi de 23,68%, considerada ineficiente, de acordo com os cálculos da ED50.

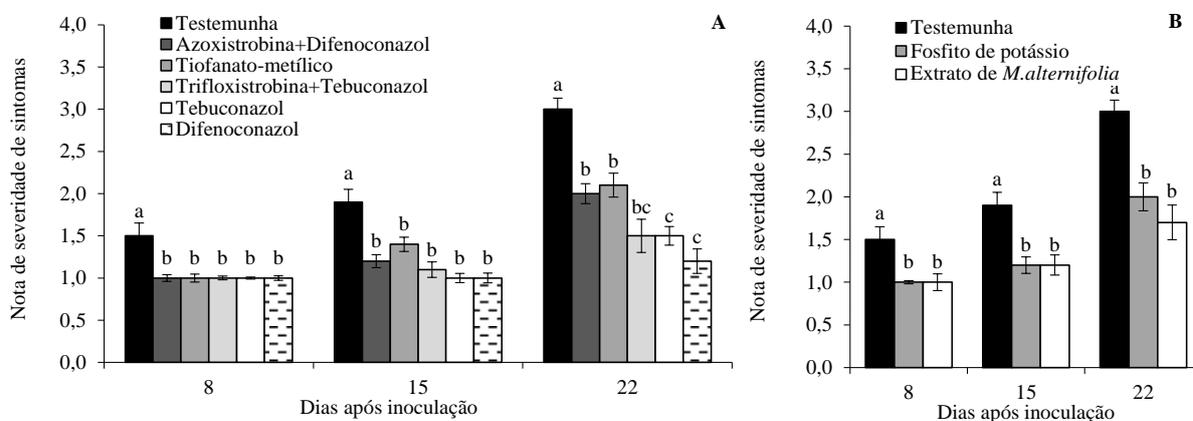
### 4.3 Efeito *in vivo* de diferentes fungicidas e indutores de resistência na doença causada pelo fungo *Septoria passifloricola* em maracujá

#### 4.3.1 Severidade

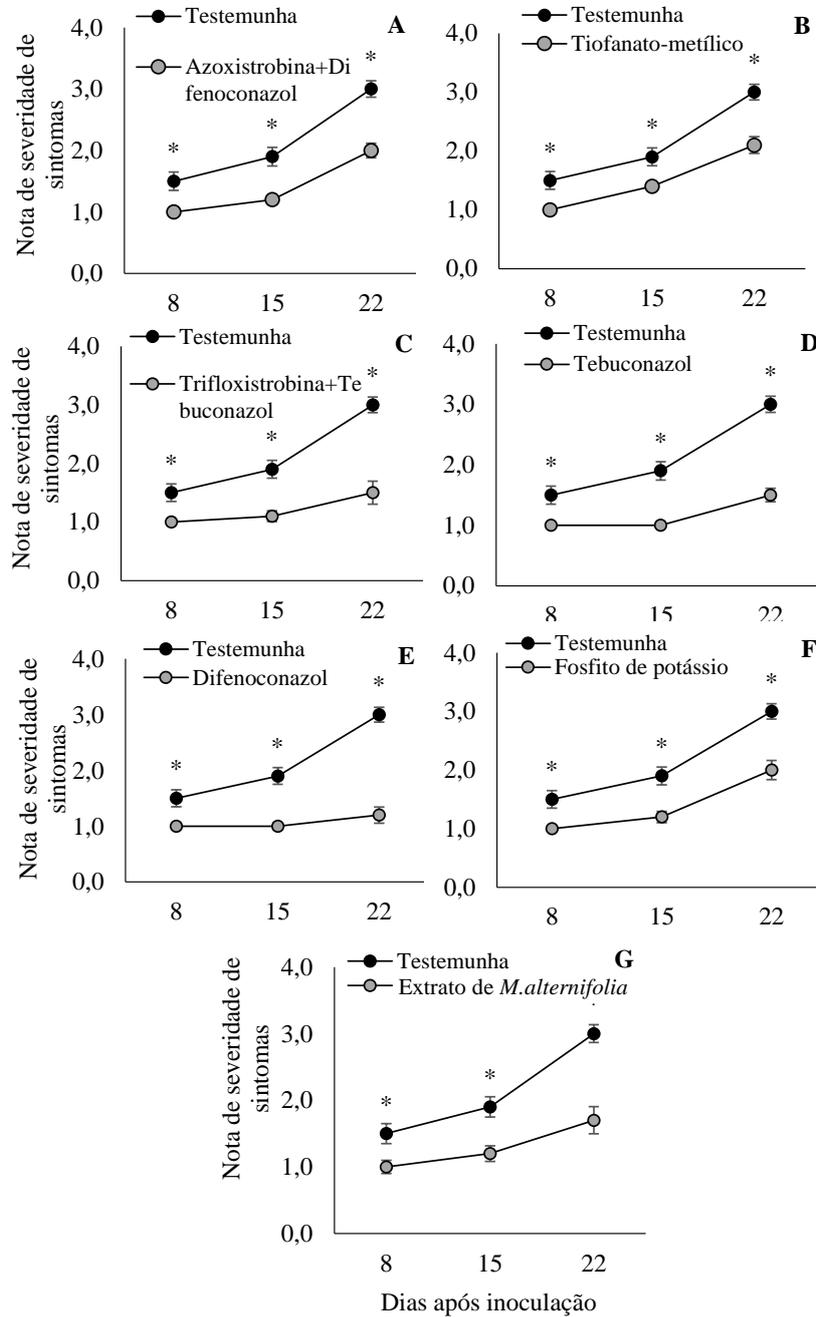
Plantas submetidas à aplicação dos fungicidas exibiram notas de severidade inferiores à testemunha aos 8, 15 e 22 dias após a inoculação do patógeno (DAI) (Figuras 15 A e 16). Aos 8 DAI, plantas submetidas à aplicação dos fungicidas e indutores de resistência não exibiram sintomas. Plantas submetidas à aplicação de tebuconazol e difenoconazol não exibiram sintomas aos 8 e 15 DAI. No entanto, aos 22 DAI, exibiram menores notas de severidade de sintomas, quando comparadas aos tratamentos testemunha, azoxistrobina + difenoconazol e tiofanato-metílico. Além disso, para o tratamento trifloxistrobina + tebuconazol, a severidade manteve-se inferior à testemunha e similar aos demais (Figura 15A).

Aos 8, 15 e 22 DAI, plantas submetidas à aplicação de fosfito de potássio e extrato de *M. alternifolia* exibiram notas de severidade de sintomas inferiores às plantas testemunhas e valores similares entre si (Figura 15 B).

Aos 22 DAI, plantas testemunhas exibiram nota média de severidade de sintomas igual a 3, o que corresponde a lesões foliares maiores que a 2 mm com halo amarelado. Para as plantas submetidas à aplicação de difenoconazol, trifloxistrobina + tebuconazol, tebuconazol e extrato de *M. alternifolia*, os valores foram de 1,2, 1,5, 1,5 e 1,7, respectivamente. Já plantas tratadas com azoxistrobina + difenoconazol e tiofanato-metílico registraram nota média de 2 e fosfito de potássio de 2,1, correspondendo à ocorrência lesões foliares menores que 2 mm.



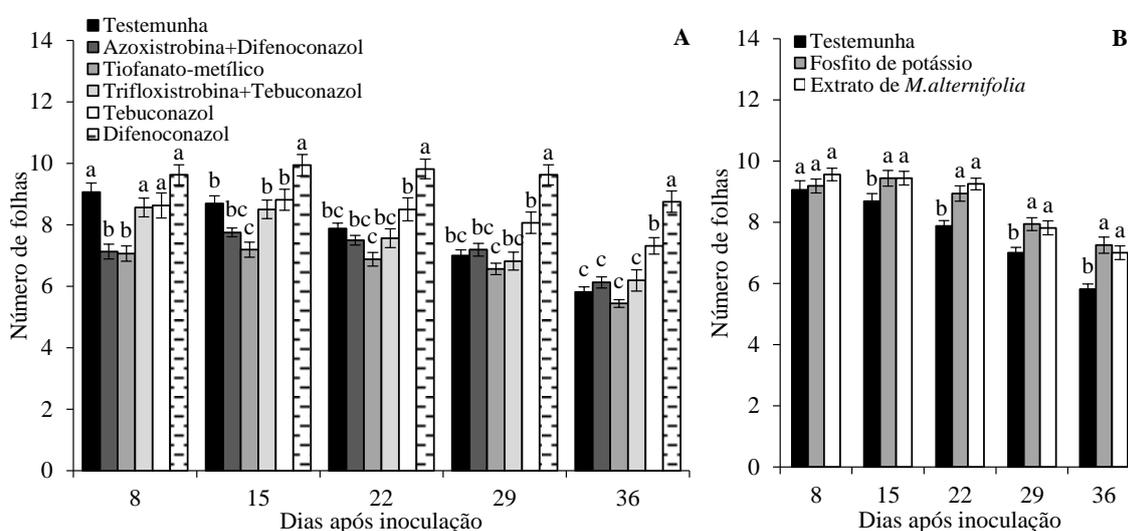
**Figura 15.** Nota de severidade de sintomas exibidos por plantas de maracujazeiro em função dos tratamentos, aos 8, 15 e 22 dias após inoculação com *Septoria passifloricola*. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).



**Figura 16.** Nota de severidade de sintomas exibidos por plantas de maracujazeiro em função dos tratamentos, aos 8, 15 e 22 dias após inoculação com *Septoria passifloricola*. Médias acompanhadas de asterisco (\*) diferem da testemunha, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

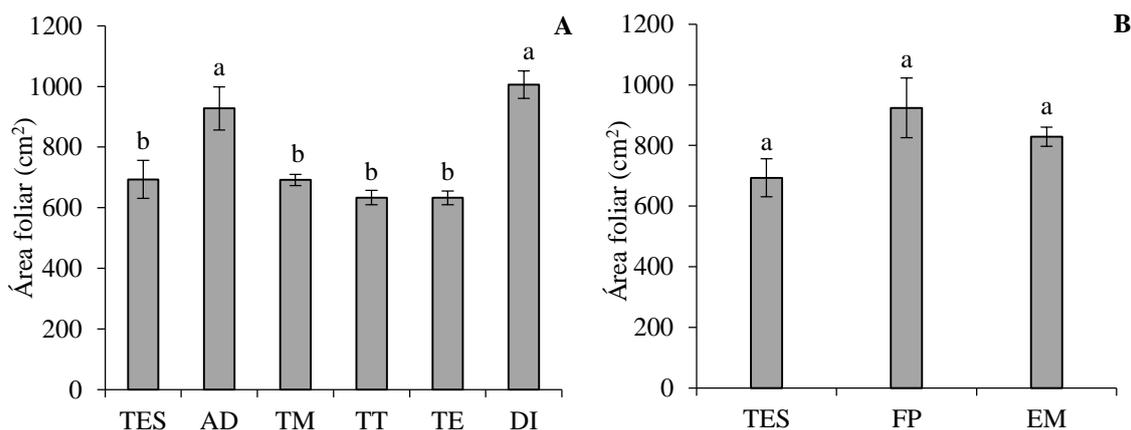
### 4.3.2 Características morfofisiológicas

Aos 15, 22, 29 e 36 DAI, a aplicação de difenoconazol propiciou a manutenção de maior número de folhas, quando comparadas à testemunha (Figura 17 A). Aos 36 DAI, plantas tratadas com tebuconazol também exibiram maior número de folhas que a testemunha e inferior ao tratamento com difenoconazol (Figura 17 A). Nos demais tratamentos, o número de folhas foi igual ou inferior à testemunha. Aos 15, 22, 29 e 36 DAI, plantas submetidas à aplicação de fosfito de potássio e extrato de *M. alternifolia* exibiram maior número de folhas que a testemunha e valores similares entre si (Figura 17 B).



**Figura 17.** Número de folhas de plantas de maracujazeiro inoculadas com *Septoria passifloricola* em função da aplicação de fungicidas (A) e indutores de resistência (B). Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Plantas submetidas à aplicação dos fungicidas difenoconazol e azoxistrobina + difenoconazol exibiram os maiores valores de área foliar, quando comparadas aos demais tratamentos (Figura 18 A). Já para os indutores de resistência, não houve diferenças entre os tratamentos (Figura 18 B).



**Figura 18.** Área foliar de plantas de maracujazeiro inoculadas com *Septoria passifloricola* em função da aplicação de fungicidas (A) e indutores de resistência (B). Testemunha (TES), azoxistrobina + difenoconazol (AD), tiofanato-metílico (TM), trifloxistrobina + tebuconazol (TT), tebuconazol (TE), difenoconazol (DI), fosfito de potássio (FP) e extrato de *M. alternifolia* (EM). Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Em geral, plantas submetidas à aplicação de trifloxistrobina + tebuconazol e tebuconazol exibiram menor altura e comprimento de raiz. Plantas tratadas com difenoconazol exibiram maior massa seca de raiz, altura e massa seca da parte aérea, similar às plantas tratadas com azoxistrobina + difenoconazol e superior aos demais tratamentos (Tabela 4).

A aplicação dos indutores de resistência não afetou as características morfológicas e de biomassa da parte aérea e raiz (Tabela 4).

**Tabela 4** – Efeitos de tratamentos sobre altura de plantas, comprimento de raiz, massa seca de parte aérea e raiz em plantas de maracujazeiro inoculadas com *Septoria passifloricola*

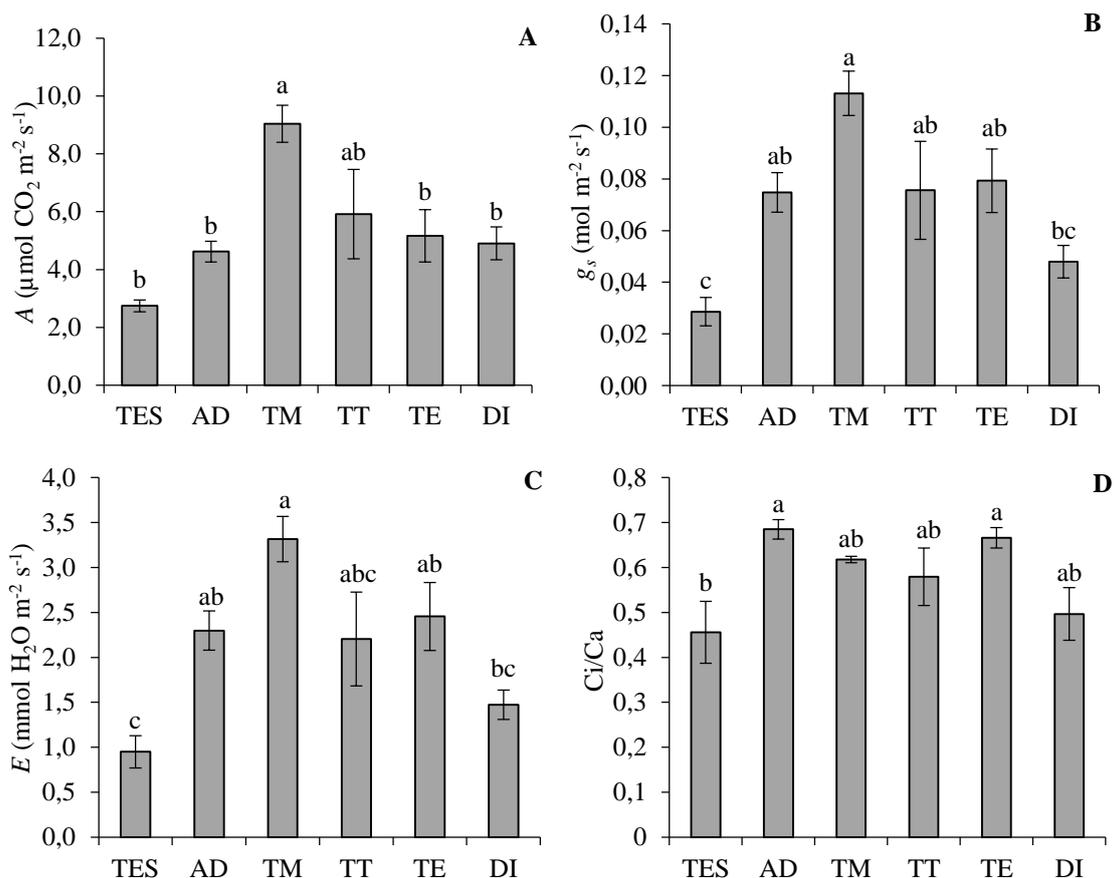
Tratamentos	Altura de plantas (cm)	Comprimento de raiz (cm)	Massa seca da parte aérea (g)	Massa seca da raiz(g)
Testemunha	20,93 ± 1,35 bc	16,64 ± 0,15 a	7,01 ± 0,24 bc	5,68 ± 0,93 b
Azoxistrobina + Difenoconazol	25,16 ± 1,46 ab	16,39 ± 0,58 a	9,55 ± 1,14 ab	8,30 ± 0,63 b
Tiofanato-metílico	23,28 ± 1,30 abc	16,30 ± 0,23 a	6,02 ± 0,30 c	5,96 ± 0,68 b
Trifloxistrobina + Tebuconazol	16,26 ± 0,27 c	12,08 ± 0,25 b	6,99 ± 0,86 bc	7,86 ± 0,43 b
Tebuconazol	15,04 ± 0,72 c	11,13 ± 0,47 b	6,85 ± 0,72 bc	6,54 ± 0,37 b
Difenoconazol	30,35 ± 3,56 a	18,20 ± 1,64 a	10,66 ± 0,25 a	12,18 ± 1,21 a
Tratamentos	Altura de plantas (cm)	Comprimento de raiz (cm)	Massa seca da parte aérea (g)	Massa seca da raiz (g)

Testemunha	20,93 ± 1,35 a	16,64 ± 0,15 a	7,01 ± 0,24 a	5,68 ± 0,93 a
Fosfito de potássio	27,09 ± 3,60 a	17,70 ± 1,56 a	7,44 ± 1,02 a	5,30 ± 0,26 a
Extrato de <i>M. alternifolia</i>	27,94 ± 2,01 a	17,26 ± 0,48 a	7,68 ± 0,70 a	6,59 ± 0,40 a

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

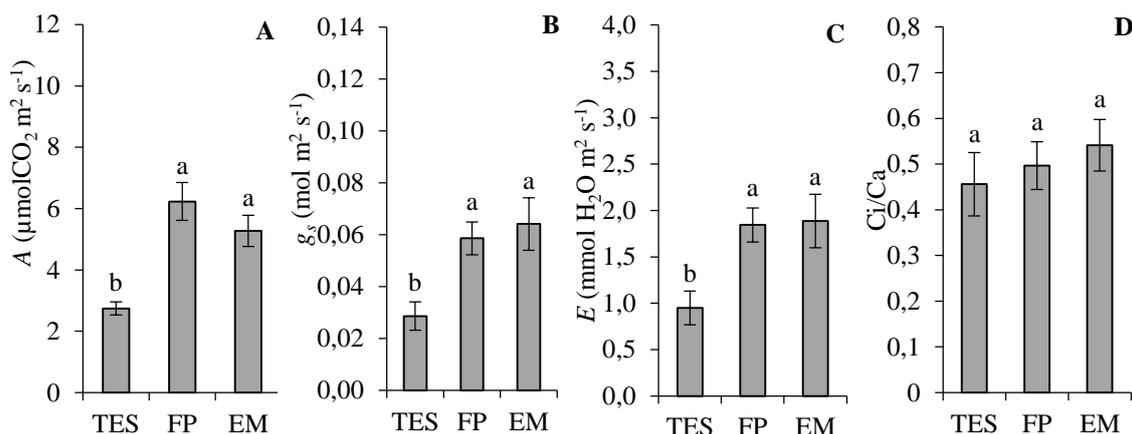
### 4.3.3 Trocas gasosas foliares

Sob aplicação de tiofanato-metílico, as plantas exibiram maior taxa fotossintética (A), quando comparadas à testemunha, com a aplicação de azoxistrobina + difenoconazol, tebuconazol e difenoconazol similar à aplicação de trifloxistrobina + tebuconazol (Figura 19 A). A aplicação dos fungicidas azoxistrobina+difenoconazol, tiofanato-metílico, trifloxistrobina + tebuconazol e tebuconazol afetou o comportamento dos estômatos das folhas de maracujazeiro, resultando em maior condutância estomática ( $g_s$ ), quando comparadas à testemunha. Para difenoconazol, verificam-se valores de  $g_s$  iguais, tanto à testemunha quanto à azoxistrobina + difenoconazol, trifloxistrobina + tebuconazol e tebuconazol (Figura 19 B). A transpiração ( $E$ ) das plantas submetidas à aplicação de tiofanato-metílico foi similar a dos tratamentos com azoxistrobina + difenoconazol, trifloxistrobina + tebuconazol e tebuconazol, e maior aos demais tratamentos (Figura 19 C). A razão entre a concentração interna e ambiente de  $CO_2$  ( $C_i/C_a$ ) foi superior em plantas submetidas à aplicação de azoxistrobina + difenoconazol e tebuconazol, quando comparadas à testemunha. Para os demais tratamentos, verificou-se valores intermediários (Figura 19 D).



**Figura 19.** Fotossíntese líquida (A) [A], condutância estomática ( $g_s$ ) [B], transpiração (E) [C] e razão entre a concentração interna e ambiente de  $\text{CO}_2$  (Ci/Ca) [D] em folhas de maracujazeiro inoculadas com *Septoria passifloricola*, em função dos tratamentos: testemunha (TES), azoxistrobina + difenoconazol (AD), tiofanato-metílico (TM), trifloxistrobina + tebuconazol (TT), tebuconazol (TE), difenoconazol (DI). Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

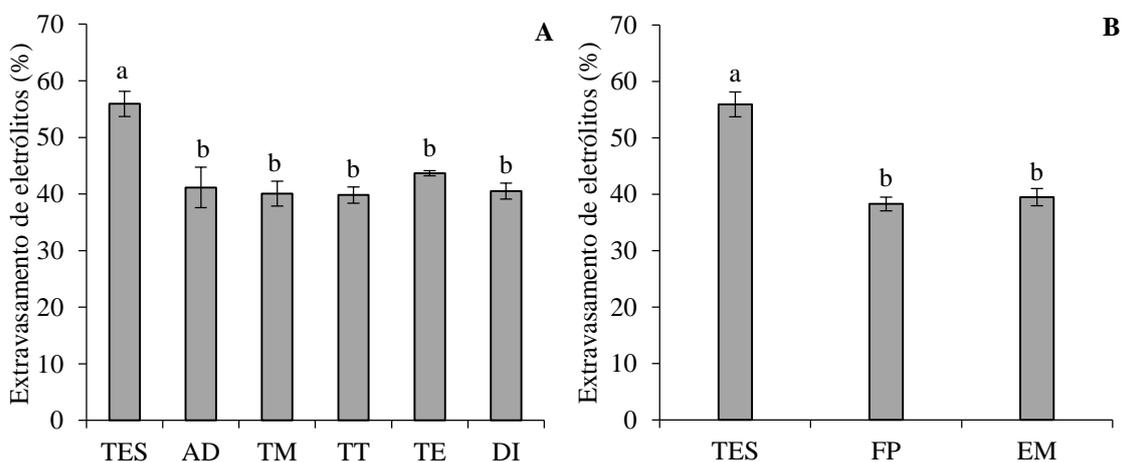
Plantas submetidas à aplicação dos indutores de resistência exibiram maiores valores de A,  $g_s$  e E, quando comparadas à testemunha (Figura 20 A B e C). No entanto, a relação Ci/Ca não revelou diferenças entre os tratamentos (Figura 20 D).



**Figura 20.** Fotossíntese líquida (A) [A], condutância estomática ( $g_s$ ) [B], transpiração (E) [C] e razão entre a concentração interna e ambiente de  $\text{CO}_2$  ( $C_i/C_a$ ) [D] em folhas de maracujazeiro inoculadas com *Septoria passifloricola*, em função dos tratamentos: testemunha (TES), fosfito de potássio (FP) e extrato de *M. alternifolia* (EM). Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.4 Extravasamento de eletrólitos

A aplicação dos fungicidas e dos indutores de resistência reduziu o extravasamento de eletrólitos das plantas infectadas por *S. passifloricola*, quando comparadas à testemunha (Figura 21 A e B).



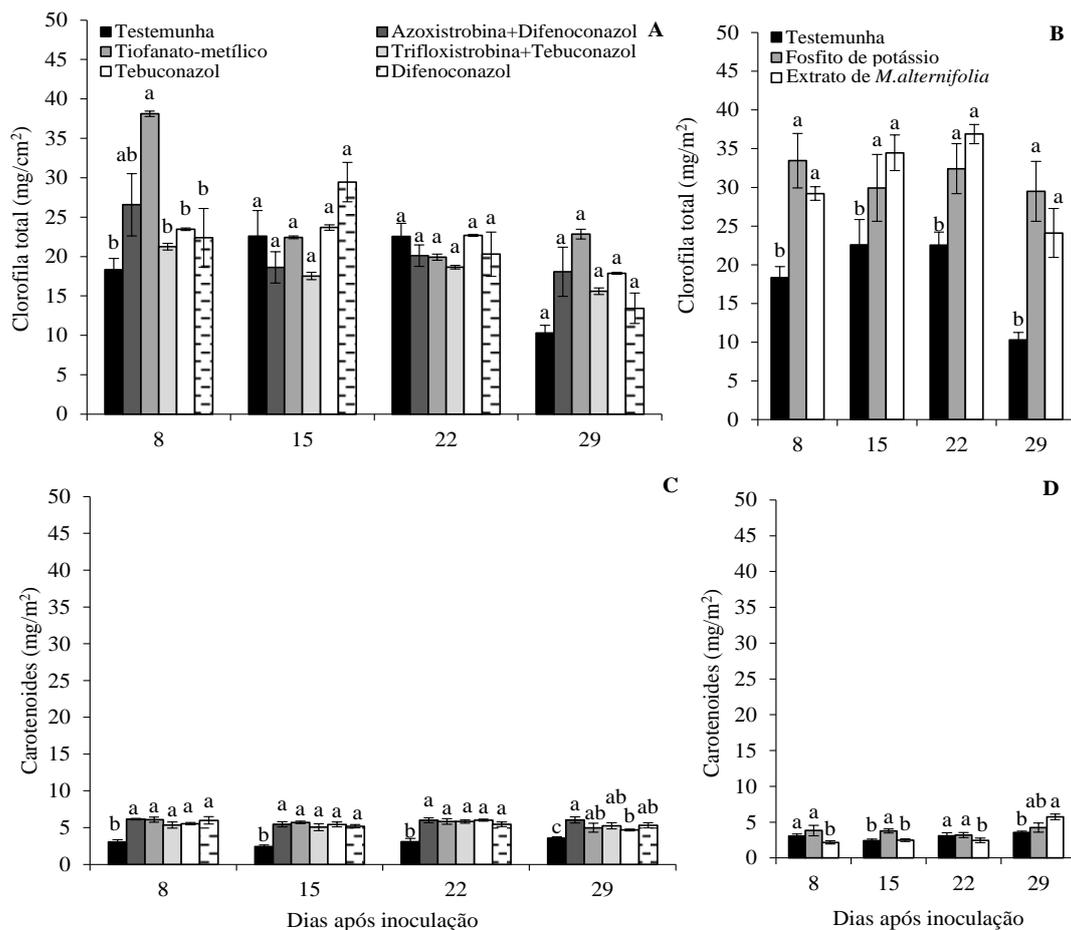
**Figura 21.** Extravasamento de eletrólitos (%) em plantas de maracujazeiro inoculadas por *Septoria passifloricola* em função da aplicação de fungicidas (A) e indutores de resistência (B). Testemunha (TES), azoxistrobina + difenoconazol (AD), tiofanato-metílico (TM), trifloxistrobina + tebuconazol (TT), tebuconazol (TE), difenoconazol (DI), fosfito de potássio (FP) e extrato de *M. alternifolia* (EM). Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3.5 Teores de pigmentos fotossintéticos

Aos 8 DAI, plantas submetidas à aplicação de tiofanato-metílico exibiram teor de clorofila total similar ao tratamento com azoxistrobina + difenoconazol, sendo superiores aos demais tratamentos (Figura 22 A). Aos 15, 22 e 29 DAI, não houve diferenças entre os tratamentos. Já para as plantas submetidas à aplicação de fosfito de potássio e extrato de *M. alternifolia*, os teores de clorofila total foram superiores aos da testemunha em todos os períodos avaliados (Figura 22 B).

Aos 8, 15 e 22 DAI, os teores de carotenoides nas plantas submetidas à aplicação dos fungicidas foram maiores em relação às plantas testemunhas. Aos 29 DAI, plantas submetidas à aplicação de azoxistrobin + difenoconazol, trifloxistrobina + tebuconazol e difenoconazol exibiram teores de carotenoides superiores à testemunha. No entanto, os valores dos demais tratamentos foram intermediários (Figura 22 C).

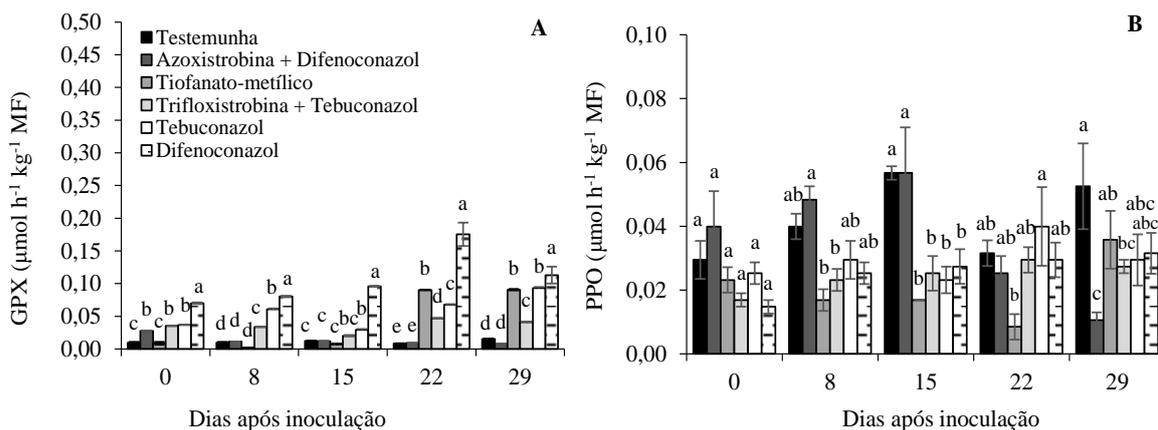
Para plantas submetidas à aplicação de fosfito de potássio, verificou-se que, aos 8 DAI, houve maiores teores de carotenoides nas plantas, quando comparadas ao uso de extrato de *M. alternifolia*; no entanto, quando comparadas à testemunha, os valores foram similares. Já aos 29 DAI, verificou-se maior teor de carotenoides nas plantas submetidas à aplicação de extrato de *M. alternifolia*, quando comparadas à testemunha, não diferindo do tratamento com fosfito de potássio que exibiu valor intermediário (Figura 22 D).



**Figura 22.** Teores de clorofila total (A e B) e carotenoides (C e D) em plantas de maracujazeiro inoculadas por *Septoria passifloricola* em função da aplicação de fungicidas e indutores de resistência. Médias seguidas de acompanhadas de letras iguais na mesma coluna não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

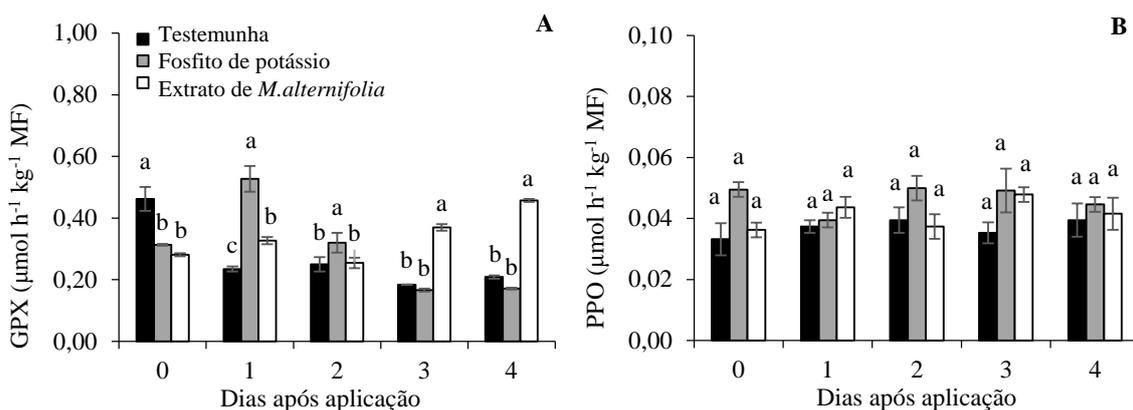
#### 4.3.6 Atividade das enzimas peroxidase do guaiacol (GPX) e polifenoloxidase (PPO)

A aplicação dos fungicidas, tiofanato-metílico, trifloxistrobina + tebuconazol, tebuconazol e difenoconazol, propiciou aumento na atividade da GPX, quando comparadas à testemunha e à aplicação de azoxistrobina + difenoconazol, aos 22 e 29 DAI (Figura 23 A). Destaca-se que, em todos os períodos de avaliação, a atividade da GPX foi maior em plantas submetidas à aplicação de difenoconazol. A atividade da PPO, nas plantas submetidas à aplicação dos fungicidas, manteve-se inferior ou igual às plantas testemunhas (Figura 23 B).



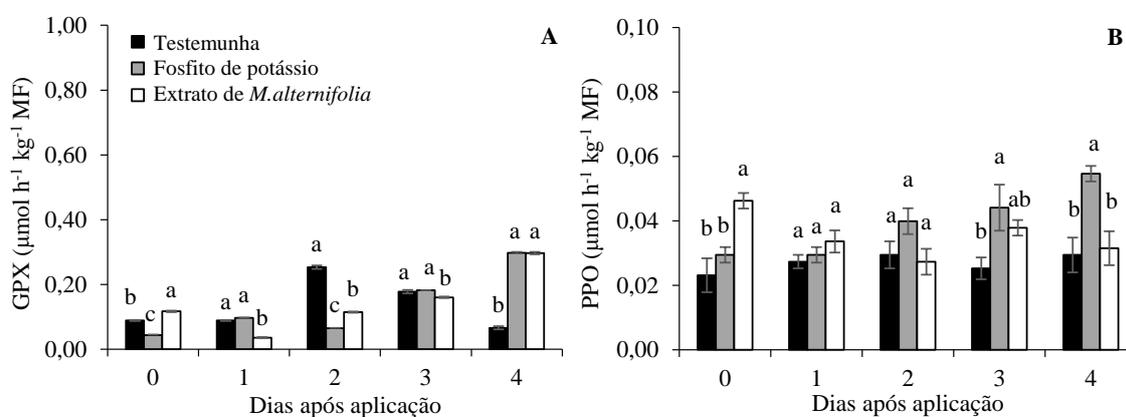
**Figura 23.** Atividade da peroxidase do guaiacol (GPX) (A) e da polifenoloxidase (PPO) (B) em folhas de maracujazeiros em função da aplicação de fungicidas, aos 0, 8, 15, 22 e 29 dias após inoculação com *Septoria passifloricola*. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Plantas submetidas à aplicação dos indutores de resistência exibiram, ao primeiro e segundo dia após aplicação (DAA), maior atividade da GPX para o fosfito de potássio, quando comparadas à testemunha (Figura 24 A). Aos 3 e 4 DAA, verificou-se maior atividade nas plantas sob aplicação de extrato *M. alternifolia*, quando comparadas à testemunha e fosfito. Para atividade da PPO, não houve diferenças entre os tratamentos (Figura 24 B).



**Figura 24.** Atividade das enzimas glutatona peroxidase (GPX) (A) e polifenoloxidase (PPO) (B) em folhas de maracujazeiros inoculadas com *Septoria passifloricola* em função dos tratamentos testemunha, fosfito de potássio e extrato de *Melaleuca alternifolia*, aos 0, 1, 2, 3 e 4 dias após a primeira aplicação. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Aos 1, 2 e 3 dias após a segunda aplicação dos indutores, a atividade da GPX, nas plantas submetidas à aplicação de fosfito e extrato de *M. alternifolia*, foi inferior ou igual à testemunha. No entanto, aos 4 DAA, a atividade da GPX foi maior nas plantas submetidas à aplicação dos indutores (Figura 25 A). Para a atividade da PPO, verificou-se alterações aos 3 e 4 DAA. Aos 3 DAA, a atividade da PPO foi maior nas plantas submetidas à aplicação de fosfito, quando comparadas à testemunha; e igual à aplicação de extrato de *M. alternifolia* que, por sua vez, não diferiu da testemunha (Figura 25 B). Já aos 4 DAA, verificou-se maior atividade com aplicação de fosfito em comparação à testemunha e extrato de *M. alternifolia* que não diferiram entre si.



**Figura 25.** Atividade das enzimas glutatona peroxidase (GPX) (A) e polifenoloxidase (PPO) (B) em folhas de maracujazeiros inoculadas com *Septoria passifloricola* em função dos tratamentos testemunha, fosfito de potássio e extrato de *Melaleuca alternifolia*, aos 0, 1, 2, 3 e 4 dias após a segunda aplicação. Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Variações na atividade da GPX e PPO entre a testemunha e os tratamentos, com fungicidas e indutores de resistência no tempo zero, correspondente ao período no qual a aplicação ainda não havia sido realizada, evidenciando uma variação natural na atividade enzimática das plantas de maracujazeiro.

## 5 DISCUSSÃO

As espécies de fungos, pertencentes ao gênero *Septoria*, estão entre os fungos causadores de manchas foliares mais comuns e difundidos pelo mundo. Nos últimos 150 anos, mais de dois mil táxons foram atribuídos ao gênero (Quaedvlieg *et al.*, 2013).

As características morfológicas de espécies de *Septoria* estão diretamente associadas ao seu hospedeiro, podendo apresentar grandes variações, principalmente em relação à formação morfológica do comprimento, largura e septação dos conídios (Verkley *et al.*, 2013).

Três espécies de *Septoria* são capazes de infectar diferentes espécies do gênero *Passiflora*, sendo essas espécies do fungo facilmente distinguidas com base na morfologia dos seus conídios (Cline, 2006).

No presente estudo, o fungo foi caracterizado morfológicamente através da medição dos conídios que variaram de 13,0 a 20,0  $\mu\text{m}$  de comprimento e 1,0 a 1,5  $\mu\text{m}$  de largura.

De acordo com Cline (2006), os conídios de *S. passifloricola* variam de 14,0 a 22,0  $\mu\text{m}$  de comprimento e 1,5 a 2,0  $\mu\text{m}$  de largura, ou seja, morfológicamente, os conídios medidos no presente estudo se assemelham às medidas relatadas para a espécie *S. passifloricola*.

Cline (2006) destaca, ainda, que os conídios da espécie *S. passiflorae* Syd. variam de 35,0 a 52,0  $\mu\text{m}$  de comprimento e 1,5 a 2,0  $\mu\text{m}$  de largura, valores totalmente diferentes dos relatados para a espécie *S. passifloricola*, sendo esse um parâmetro morfológico importante para a distinção de ambas as espécies de *Septoria*.

Embora essas características morfológicas estabeleçam diferenças entre as espécies *S. passiflorae* e *S. passifloricola*, existe uma discussão quanto à nomenclatura e caracterização dessas duas espécies que ocorrem em maracujazeiro, pois ambas já foram consideradas homônimos (Punithalingam, 1980).

Em virtude dessa discussão entre as duas espécies homônimas, a determinação das espécies de *Septoria* associadas a maracujazeiros pelo mundo é cautelosa. Poucos estudos foram realizados com objetivo de esclarecer essa discussão. Trujillo *et al.* (1994) identificaram um isolado *S. passiflorae* Syd, com base nas dimensões de conídios, proveniente de plantas de *Passiflora tripartita* var. *tripartita*, na Colômbia, e testaram a patogenicidade em sete diferentes espécies de *Passiflora*, sendo que apenas *P.*

*tripartita* var. *tripartita* e *P. foetida* foram suscetíveis, enquanto que *P. laurifolia*, *P. ligularis*, *P. suberosa*, *P. edulis* e *P. edulis* f. *flavicarpa* não foram infectadas.

Punithalingam (1980) identificou que *S. passifloricola* ocorre apenas em *Passiflora brasiliensis* (= *P. alata*), *Passiflora edulis*, *Passiflora macrocarpa*, *Passiflora quadrangulares* e *Passiflora quitensis*.

Cline (2006) destaca que relatórios do banco de dados do *Systematic Botany of Mycological Resources*, que associam o fungo causador de septoriose em maracujazeiro à espécie *S. passiflorae*, podem, na verdade, estarem fazendo referência à espécie *S. passifloricola*, e que, no Brasil e na Flórida, locais onde a septoriose ocorrem em *P. edulis*, o patógeno, provavelmente, é o *S. passifloricola*.

Com a atual caracterização morfológica, é possível confirmar que a espécie causadora de septoriose em *P. edulis*, no Brasil, é o *S. passifloricola*. A confirmação da espécie foi realizada também através da caracterização molecular, cujas sequências obtidas do fator de alongação foram utilizadas para construção de uma árvore filogenética (Figura 4). A partir dessas informações depositadas no *GenBank* e utilizando a ferramenta BLASTn, foi possível determinar que o isolado possui 100% de identidade com outros isolados de *S. passifloricola*. Essa é a primeira caracterização molecular desse patógeno no Brasil, reafirmando que a septoriose em *P. edulis* é da espécie *S. passifloricola*.

Feau *et al* (2006) destacam que existe um padrão evolutivo entre o fungo *Septoria* e o seu hospedeiro, sendo a determinação da espécie fundamental para estabelecer a relação patógeno-hospedeiro e, a partir disso, definir medidas de controle eficientes, a fim de diminuir as chances de disseminação do patógeno e danos econômicos para a cultura.

Nos testes *in vitro*, realizados para confirmar a ação fungitóxica de diferentes fungicidas e produtos indutores de resistência, foram estabelecidas inibições do crescimento micelial do *S. passifloricola*.

Silva *et al.* (2006) afirmam que o uso de produtos, como estratégia para diminuir a possibilidade de estabelecimento do patógeno, é fundamental para evitar e/ou diminuir o processo infeccioso em tecidos vegetais, assim como diminuir a severidade da doença.

As estrobirulina, classificadas como fungicidas protetores e curativos, possuem uma maior sensibilidade para inibição do micélio fúngico (Balba, 2007), o que pode justificar o menor crescimento micelial do fungo *S. passifloricola*.

O modo de ação dos inibidores da biossíntese de ergosterol, como os tratamentos, trifloxistrobina + tebuconazol, tebuconazol e dicofenazol, obteve uma eficiência para a inibição do crescimento micelial do *S. passifloricola*. Esses resultados se justificam, pois esteróis, como 4,4-dimetil e 4 $\alpha$ -metil que possuem radical 14 $\alpha$ -metil, promovem a inativação do processo de demetilação do lanosterol até compostos intermediários que são precursores da síntese de esteróis fúngicos. Essa ausência de ergosterol, assim como o aumento de compostos intermediários promovem uma desorganização celular e formação de membranas alternativas, levando as células fúngicas ao colapso (Rodrigues, 2006).

Um estudo com testes *in vitro* utilizando isolados do fungo *Septoria petroselini*, o agente causal da septoriose da salsa, confirmou maior eficiência na inibição do crescimento micelial na presença de produtos à base de tebuconazol, com um valor de EC 50 <0,052 mg l<sup>-1</sup>, seguido por azoxistrobina e trifloxistrobina, com valores de EC 50 de 0,053 e 0,066 mg l<sup>-1</sup>, respectivamente (Tok, 2008).

Para a cultura do trigo, a mancha de septoriose (*Mycosphaerella graminicola*) é uma das doenças foliares mais importantes na Irlanda. Diversos estudos são realizados para testar a sensibilidade de isolados do fungo a diversos fungicidas, com a finalidade de se evitar uma possível resistência dos patógenos a ingredientes ativos. Nas safras de 2005, 2008 e 2009, foi testada a sensibilidade dos isolados ao tebuconazol em várias concentrações, mas nenhum isolado obteve valores de EC50 superiores a 10 ppm (O'Sullivan *et al.*, 2010).

O crescimento micelial do fungo *S. passifloricola* foi maior nos tratamentos com tiofanato-metílico, quando comparado com os demais fungicidas, com valor de ED50 de 11,43. Valores elevados de ED50 também foram relatados para a sensibilidade *in vitro* do fungo *Septoria lycopersici*, isolado do tomateiro, na presença de tiofanato-metílico (Baldicera *et al.*, 2020). Na Grécia, isolados de *Septoria pyricola* não obtiveram controle na presença de benzimidazóis (Papas *et al.*, 2010). Para a cultura do trigo, também foi relatado ineficiência no uso de tiofanato-metílico para controle do *Septoria tritici* (Lucas *et al.*, 2015).

A baixa eficiência do tiofanato-metílico pode estar associada à resistência de várias espécies de fungos a esse princípio ativo (Frac, 2021). O tiofanato-metílico é um fungicida de ação sistêmica que possui uma alta especificidade com alteração no sítio de ação da  $\beta$ -tubulina. Nos últimos anos, a resistência de fungicidas tem sido discutida em

relação a muitos patógenos, sendo esse um motivo de preocupação para espécies de *Septoria* em diversas culturas (Estep *et al.*, 2015).

Os ensaios *in vitro* com o fosfito de potássio demonstraram que o produto possui ação fungistática para *S. passifloricola*, pois o fungo reduziu o crescimento da colônia, quando comparado à testemunha, mas não cessou completamente o seu crescimento em nenhuma das concentrações. Boneti e Katsurayama (2005) explicam que o ácido fosforoso inibe fortemente a ação fúngica em tecidos vegetais, mas possui baixa atividade *in vitro*, uma vez que o ácido é extremamente fitotóxico, entretanto, quando neutralizado por uma base, resulta em um fosfito que apresenta alta atividade fungicida sem risco de toxicidade para a planta.

O extrato de *Melaleuca alternifolia* contém mais de cem componentes, principalmente monoterpenos, sesquiterpenos e seus alcoois. A formulação comercial desse biofungicida contém 23,8% do princípio ativo. Em um estudo com isolados de *Pythium aphanidermatum*, o biofungicida foi testado *in vitro* e mostrou-se menos eficiente, com altos valores de ED50 (Mihajlovic *et al.*, 2015). Isolados de *Alternaria solani* do tomateiro também foram testados *in vitro* na presença do extrato de *M. alternifolia* e valores relatados de ED50 foram elevados, quando comparados com fungicidas triazóis, também testados neste estudo. No entanto, o autor destaca o efeito altamente supressor do extrato de *M. alternifolia* contra o patógeno e recomenda o uso como um agente inibidor de sucesso contra o patógeno da requeima do tomate (Stepanovic *et al.*, 2015). Resultados de ED50 superiores foram encontrados no presente estudo para o fungo *S. passifloricola*. É importante destacar que se trata de um fungo causador de doenças foliares, assim como a *Alternaria solani*, o que pode justificar o efeito supressor no crescimento micelial do *S. passifloricola*.

Entre os estágios do ciclo de vida de um fungo, o crescimento micelial da colônia indica o potencial de infecção, colonização e, conseqüentemente, o desenvolvimento da doença no seu hospedeiro. Portanto, produtos químicos, que possuem sensibilidade para inibição do crescimento micelial, reduzem a capacidade de infecção do patógeno no hospedeiro, sendo essa determinação importantíssima para seleção de produtos químicos eficientes para controle de doenças (Michereff *et al.*, 2005).

Nos testes *in vivo*, tanto os fungicidas quanto os indutores de resistência reduziram os sintomas ocasionados por *S. passifloricola*, quando comparados às plantas testemunhas.

Aos 22 DAI, plantas submetidas à aplicação de difenoconazol e tebuconazol exibiram as menores notas de sintomas, evidenciando menor severidade da doença, o que indica que as plantas tratadas com os fungicidas triazóis tiveram menor incidência da ação patogênica do fungo (Figuras 15 e 16). Os triazóis difenoconazol e tebuconazol são fungicidas de amplo espectro, pertencentes ao grupo dos inibidores da enzima esterol 14 $\alpha$ - desmetilase, que atuam ao nível da parede celular dos fungos, inibindo a biossíntese do ergosterol e, assim, impactando o estabelecimento do fungo nos tecidos vegetais (Ziogas e Malandrakis, 2015).

Quanto aos dados de número de folhas, resultados obtidos para *S.passifloricola* evidenciam eficiência dos fungicidas na manutenção do número de folhas, principalmente para difenoconazol, que exibiu maiores valores, e, portanto, menor abscisão foliar em relação aos demais tratamentos a partir dos 15 DAI. Além disso, plantas submetidas à aplicação de difenoconazol ou azoxistrobina + difenoconazol exibiram maior área foliar (Figuras 17 e 18). Em plantas de tomate, a aplicação dos fungicidas difenoconazol e metconazol propiciou maior eficiência na redução da severidade dos sintomas, como a abscisão foliar, ocasionados por *Septoria lycopersici* (Baldicera *et al.*, 2020). A aplicação de difenocanazol também ocasionou maior eficiência no controle de *Septoria scrophulariae* em plantas de *Scrophularia* (Wang *et al.*, 2009).

Os tratamentos com produtos indutores de resistência, com maior tempo de contato das plantas com o inóculo do fungo, aos 22 DAI, obtiveram menores notas de severidade da doença em relação à testemunha. A partir dos 15 DAI, a manutenção do número de folhas também se manteve com os tratamentos com fosfito de potássio e extrato de *M. alternifolia* em relação à testemunha. Tais resultados se explicam, pois embora o fosfito de potássio seja comercializado, devido ao seu valor nutricional, também possui ação antifúngica (Havlin; Schlegel, 2021). A ação antifúngica e antibacteriana dos fosfitos envolvem efeitos diretos, como inibição da esporulação fúngica ou redução na taxa de desenvolvimento; e indiretos, por meio da estimulação de mecanismos de defesa da planta (Deliopoulos *et al.*, 2010). Já o modo de ação do extrato de *M. alternifolia* envolve a perda da integridade da membrana e inibição da respiração celular e do transporte de íons (Carson *et al.*, 2006; Shao *et al.*, 2013). A aplicação de Timorex Gold, um fungicida que tem como princípio ativo o extrato de *M. alternifolia*,

demonstrou alta eficácia e forte atividade curativa contra a Sigatoka negra na banana e o oídio em pepino (Reuveni *et al.*, 2020).

Valores reduzidos de altura e comprimento de raiz, verificados nos tratamentos trifloxistrobina + tebuconazol e tebuconazol, podem ser explicados pelo efeito do princípio ativo dos triazóis em plantas (Tabela 4). Os fungicidas triazóis podem inibir o crescimento de plantas, pois atuam na segunda fase da síntese de giberelina, ou seja, na oxidação do ent-caureno a GA12-aldeído (Pacentchuk *et al.*, 2018). O fornecimento de triazóis via solo também resultou em retardo de crescimento de plantas de milho (Khalil *et al.*, 1990) e de tomate (Jakl *et al.*, 2021). Por outro lado, o difenoconazol, que também é um triazol, teve um efeito positivo no crescimento das plantas de maracujazeiro.

Além de promover um efeito direto contra fungos, fungicidas podem alterar os vários processos fisiológicos das plantas. Neste estudo, plantas tratadas com tiofanato-metílico exibiram taxa fotossintética similar ao tratamento trifloxistrobina + tebuconazol e superior aos demais tratamentos, o que pode estar relacionado ao efeito similar à citocinina verificado em benzimidazóis e seus derivados (Thomas, 1974) que pode resultar em retardo da senescência das folhas e menor degradação das clorofilas (Tripathi *et al.*, 1982). A aplicação combinada de fungicidas triazólicos e estrobilurinas também apresenta efeitos anti-senescentes que têm sido atribuídos aos níveis aumentados de citocininas e poliaminas, redução da formação de etileno e aumento da atividade antioxidante (Wu; Tiedemann, 2001; 2002; Zhang *et al.*, 2010). Os maiores teores de clorofila total, verificados os 8 DAI nos tratamentos com tiofanato-metílico e trifloxistrobina + tebuconazol, corroboram essas informações (Figura 22).

Os tratamentos com tiofanato-metílico, trifloxistrobina + tebuconazol e tebuconazol tiveram diferenças significativas em relação à testemunha, para os parâmetros de fotossíntese líquida, condutância estomática, transpiração e razão entre a concentração interna e externa de CO<sub>2</sub>, indicando que, com os tratamentos, houve uma maior intensificação de trocas gasosas (Figura 19). Em plantas de trigo, a aplicação do inibidor da succinato desidrogenase, isopirazam, em uma mistura com o triazol epoxiconazol, também aumentou a eficiência do PSII e potencializou as trocas gasosas (Ajigboye *et al.*, 2014). Já em plantas de feijão, a aplicação dos fungicidas piraclostrobina, tebuconazole e tebuconazole + trifloxistrobina aumentaram os níveis de fotossíntese, porém não alteraram a condutância estomática (Demant; Maringoni, 2012).

Nos demais tratamentos com fungicidas, a redução na fotossíntese não se deve à limitação de CO<sub>2</sub>, tendo em vista que a relação Ci/Ca não diferiu em relação ao tratamento com tiofanato-metílico. Dessa forma, esses efeitos podem estar relacionados a alterações na fase bioquímica da fotossíntese. Embora autores relatem um impacto negativo da aplicação de fungicidas na fotossíntese das plantas (Petit *et al.*, 2012; Singh; Sahota, 2018), esses efeitos deletérios, geralmente, são verificados apenas sob utilização de doses acima do recomendado (Junqueira *et al.*, 2021).

A regulação positiva das trocas gasosas, sob aplicação de fosfato de potássio e extrato de *M. alternifolia*, provavelmente, está relacionada ao aumento nos teores de clorofila total que contribui para aumentar a captação de energia luminosa. Em plantas de feijoeiro infectadas por *Sclerotinia sclerotiorum*, a aplicação de fosfito de Zn e Cu regulou positivamente as trocas gasosas e os teores de pigmentos fotossintéticos, reduzindo, conseqüentemente, danos induzidos pelo fungo ao aparato fotossintético (Fagundes-Nacarath *et al.*, 2018). A utilização do extrato de *M. alternifolia* em folhas de manjeriço também aumentou o teor de clorofila (Fetouh, 2015).

Patógenos que causam lesões foliares podem interferir no aparato fotossintético em função da destruição de tecidos, bem como pelas alterações produzidas no metabolismo da área foliar remanescente (Stangarli *et al.*, 2000). Dessa forma, valores reduzidos de taxa fotossintética, condutância estomática e transpiração, nas plantas testemunhas, podem revelar uma resposta à infecção por *S. passifloricola*, como relatadas em outros patossistemas (Fagundes-Nacarath *et al.*, 2018; Novaes *et al.*, 2019). Possivelmente, a infecção pelo fungo ocasionou aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) que promove desregulação das células-guarda, ocasionando o fechamento estomático e limitações na  $g_s$ , e reduzindo, conseqüentemente, o influxo de CO<sub>2</sub>, como evidenciado pela redução da relação Ci/Ca nas plantas testemunhas, que resulta em redução da taxa fotossintética.

A produção de EROs é uma resposta comum à infecção por patógenos, nessas condições, o aumento da atividade antioxidante, promovida por enzimas e compostos de baixo peso molecular, como os carotenoides, tem papel crucial para a manutenção da integridade celular (Foyer; Noctor, 2013). Caso o aumento de EROs não seja precedido pelo aumento da defesa antioxidante, ocorrem danos às estruturas celulares.

O maior extravasamento de eletrólitos nas plantas testemunhas indica que a integridade da estrutura da membrana celular foi danificada em função da infecção por *S.passifloricola*. Além disso, essas plantas exibiram menor defesa antioxidante, evidenciada pelos teores reduzidos de carotenoides e baixa atividade da GPX (Figura 22 e 23). Por outro lado, a aplicação dos fungicidas, além de promover a redução da severidade da doença, aumentou os teores de carotenoides, o que contribui para neutralização das EROs.

Apesar da atividade antioxidante ter sido avaliada apenas em função da GPX e dos teores de carotenoides, os fungicidas estrobilurinas, triazóis e benzimidazóis têm demonstrado potencial para aumentar a atividade antioxidante das plantas (Amaro *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2010).

Em todos os períodos avaliados, a atividade da GPX foi maior nas plantas submetidas à aplicação de difenoconazol, o que apoia seu papel na indução de respostas de defesa das plantas de maracujá à septoriose. Nas plantas submetidas à aplicação dos fungicidas, a atividade da PPO se manteve inferior ou igual às plantas testemunhas. Contudo, a polifenoloxidase é elevada em tecidos infectados e tem grande importância para as plantas, com envolvimento nos mecanismos de defesa ou na senescência (Agrios, 2005). Dessa forma, a atividade da PPO pode estar mais relacionada à infecção fúngica, e não é afetada pela aplicação dos fungicidas avaliados. Em folhas de seringueira infectadas por *Neopestalotiopsis cubana*, Thaochan *et al.* (2020) verificaram não haver diferenças na atividade da PPO entre plantas-controle e as tratadas com o benzimidazol e carbendazim.

Após a segunda aplicação dos indutores de resistência, verificou-se aumento na atividade da GPX, principalmente aos 4 DAA de fosfito de potássio e extrato de *M. alternifolia*, e maior atividade da PPO sob aplicação de fosfito de potássio. Vários estudos têm demonstrado que os fosfitos são úteis para o controle de várias doenças, o que se deve tanto ao seu efeito direto no crescimento do patógeno, como à capacidade de ativar mecanismos de defesa da planta (Burra *et al.*, 2014; Dalio *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2016; Fagundes-Nacarath *et al.*, 2018). Além do seu efeito antifúngico direto (Shao *et al.*, 2013; Reuveni *et al.*, 2020), componentes do extrato de *M. alternifolia* estão relacionados à indução de respostas de defesa das plantas. Em frutos de morango, o tratamento com extrato de *M. alternifolia* e com terpinen-4-ol, principal componente do

extrato, aumentou a atividade de enzimas-chave da via fenilpropanoide e das enzimas peroxidases e PPO, resultando em aumento de fenólicos totais e lignina (Li *et al.*, 2020, 2021).

## 6 CONCLUSÕES

De acordo com a caracterização morfológica e molecular, a espécie que causa a septoriose em *Passiflora edulis* é a *Septoria passifloricola*.

Nos testes *in vitro*, os fungicidas trifloxistrobina + tebuconazol, tebuconazol e difenoconazol tiveram inibição do crescimento micelial acima de 50% entre a concentração de 1 e 10 ppm, sendo considerados medianamente eficientes. O produto indutor de resistência à base de *Melaleuca alternifolia* foi considerado altamente eficiente nos testes *in vitro*.

Nos testes *in vivo*, os fungicidas azoxistrobina + difenoconazol, tiofanato-metílico, trifloxistrobina + tebuconazol, tebuconazol e difenoconazol, e dos indutores de resistência, fosfito de potássio e extrato de *Melaleuca alternifolia* reduziram a severidade dos sintomas ocasionados por *S. passifloricola*.

Os produtos indutores de resistência aumentaram os teores de clorofila e regularam positivamente as trocas gasosas. Os tratamentos com fungicidas aumentaram os teores de carotenoides.

Dentre os fungicidas avaliados, o difenoconazol apresentou a maior eficiência na redução da severidade dos sintomas causados por *S. passifloricola*, além disso, promoveu maior crescimento das plantas, menor abscisão foliar e aumento na atividade da peroxidase do guaiacol (GPX).

## REFERÊNCIAS

- Agrios, G. N. **Plant Pathology**. Oxford: Elsevier Academic Press, 5th Edn, 2005.
- AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em:  
[http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 23 nov. 2021.
- Ajigboye, O. O.; Murchie, E.; Ray, R.V. Foliar application of isopyrazam and epoxiconazole improves photosystem II efficiency, biomass and yield in winter wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 114, n., p. 52-60, 2014.  
<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.07.003>.
- Alfieri Jr. S; Landgdon K; Kimbrough J; El-Gholl N; Wehlburg C. Diseases and Disorders of Plants in Florida, Bulletin No. 14, **Florida Department of Agriculture and Consumer Services**, v. 680, 1994.
- Almagro, L.; Gómez, L.V.; Belchi-Navarro, S.; Bru, R.; Ros Barceló, A.; Pedreño, M. A. Class III peroxidases in plant defence reactions. **Journal of experimental botany**, v. 60, n. 2, p. 377-390, 2009. <https://doi.org/10.1093/jxb/ern277>.
- Amaro, A. C. E.; Baron, D.; Ono, E. O.; Rodrigues, J.D. Physiological effects of strobilurin and carboxamides on plants: an overview. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 42, n.1, p. 1-10, 2020. <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2991-x>.
- Amaro, A. C. E.; Ramos, A. R. P.; Macedo, A. C.; Ono, E. O.; Rodrigues, J. D. Effects of the fungicides azoxystrobin, pyraclostrobin and boscalid on the physiology of *Japanese cucumber*. **Scientia Horticulturae**, v. 228, n. 26, p. 66-75, 2018.  
<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.016>.
- Azevedo, R. A.; Alas, R. M.; Smith, R. J.; Lea, P. J. Response from elevated carbon dioxide to air and ozone fumigation in leaves and roots of wild type and a catalase-deficient mutant of barley. **Physiologia Plantarum**, v. 104, p. 280-292, 1998.
- Balba, H. Revisão dos produtos químicos fungicidas da estrobilurina. **Jornal de Ciências Ambientais e Saúde Parte B**, v. 42, n. 4, p. 441-451, 2007.  
<https://doi.org/10.1080/03601230701316465>
- Baldicera, A. K.; Bogo, A.; Nerbass, F. R.; Becker, W. F.; Casa, R.T.; Da Silva, F. N. Sensibilidade de isolados de *Septoria lycopersici* e eficácia de fungicidas no controle de septoriose em tomateiro. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 19, n. 2, p. 159-170, 2020. <https://doi.org/10.5965/223811711922020159>
- Berger, S.; Sinha, A. K.; Roitsch, T. Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 4019-4026, 2007. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/erm298>

- Bittner, S. When quinones meet amino acids: chemical, physical and biological consequences. **Amino acids**, v. 30, n. 3, p. 205-224, 2006. <https://doi.org/10.1007/s00726-005-0298-2>
- Bolton, M. D. Primary metabolism and plant defense--fuel for the fire. **Molecular plant-microbe Interactions**, v.22, n. 5, p. 487-497, 2009. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-5-0487>
- Boneti, J. I.; Katsurayama, Y. Viabilidade do uso de fosfitos no controle da sarna-da-macieira. **Agropecuária Catarinense**, v.18, n. 2, p. 51-54, 2005.
- Bueno, P. A. O.; Peixoto, J. R.; Junqueira, N. T. V.; Mattos, J. K. A. Incidência e severidade de Septoriose (*Septoria passiflorae* SYDOW) em mudas de 48 genótipos de maracujazeiro azedo, sob casa de vegetação no Distrito Federal. **Bioscience Journal**, v.23, n. 2, p. 88-95, 2007.
- Burra, D. D.; Berkowitz, O.; Hedley, P. E.; Morris, J.; Resjö, S.; Levander, F.; Alexandersson, E. Phosphite-induced changes of the transcriptome and secretome in *Solanum tuberosum* leading to resistance against *Phytophthora infestans*. **BMC plant biology**, v.14, n.1, p.1-1, 2014. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0254-y>
- Campos, A. D.; Ferreira, A. G.; Hampe, M. M. V.; Antunes, I.F.; Brancão, N.; Silveira, E. P. D.; Augustin, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, n., p. 637-643, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2004000700004>.
- Carrijo, D. R. **Efeitos fisiológicos provocados pelo fungicida Fluxapiroxade, isolado e em mistura com a Piraclostrobina, na cultura de soja**. 2014. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Ciências Agrônomicas, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2014.
- Carson, C. F.; Hammer, K. A.; Riley, T. V. *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties. **Clinical microbiology reviews**, v.19, n. 1, p. 50-62, 2006. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.1.50-62.2006>
- Cline, E. *Septoria on Passiflora*. **U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA**. Disponível em: [https://nt.ars-grin.gov/sbmlweb/onlineresources/nomenfactsheets/rptBuildFactSheet\\_onLine.cfm?thisName=Septoria%20on%20Passiflora&currentDS=s](https://nt.ars-grin.gov/sbmlweb/onlineresources/nomenfactsheets/rptBuildFactSheet_onLine.cfm?thisName=Septoria%20on%20Passiflora&currentDS=s) pecimens. Acesso em: 21 set. 2021.
- Costa, A. F. S.; Costa, A. N.; Ventura, J. A.; Fanton, C. J.; Lima, I. M.; Caetano, L. C. S.; Santana, E. N. Recomendações técnicas para o cultivo do maracujazeiro. Vitória: **Incapar**, 56 p, 2008.
- Costa, A. P.; Peixoto, J. R.; Blum, L. E. B.; Vilela, M. S.; Nogueira, I.; De Castro, A. P. G. Escala diagramática para a quantificação da severidade da septoriose em frutos do maracujazeiro azedo. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, 2019. v. 14, n. 2, p., 2019. <https://doi.org/10.5039/agraria.v14i2a5637>

- Crous, P. W.; Aptroot, A.; Kang, J. C.; Braun, U.; Wingfield, M. J. The genus *Mycosphaerella* and its anamorphs. **Studies in Mycology**, v. 45, n., p.107-121, 2000. Doi
- Crous, P. W.; Kang, J. C.; Braun, U. A phylogenetic redefinition of anamorph genera in *Mycosphaerella* based on ITS rDNA sequence and morphology. **Mycologia**, v.93, n.6, p. 1081-1101, 2001. <https://doi.org/10.1080/00275514.2001.12063243>.
- Cunha, K. F. **Potencial antibacteriano do óleo essencial de *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel e desenvolvimento de filmes ativos para aplicação em alimentos**. 2019. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas, 2019.
- Dai, Y. L.; Wang, C. C.; Lin, H. L.; Wang, C. L. First report of *Septoria blotch* of passion fruit caused by *Septoria passifloricola* in Taiwan. **Plant Disease**, v. 100, n.3, p. 700-700. <https://doi.org/10.1094/PDIS-07-20-1571-PDN>
- Dalio, R. J.; Fleischmann, F.; Humez, M.; Osswald, W. Phosphite protects *Fagus sylvatica* seedlings towards *Phytophthora plurivora* via local toxicity, priming and facilitation of pathogen recognition. **PLOS One**, v.9, n.1, p. 1-10, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0087860>
- De Camargo, Pr, Martins, Mbg, Martins, Rg, & Romitelli, I. Efeitos do ciproconazol, azoxistrobina e óleo mineral na anatomia foliar da soja. **Agrário**, 6 (20), 154-160, 2013. 10.11606/D.11.2013.tde-19042013-102707.
- Deliopoulos, T.; Kettlewell, P.S.; Hare, M.C. Fungal disease suppression by inorganic salts: A review. **Crop Protection**, v. 29, n. 10, p.1059–1075, 2010. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.011>
- Demant, L. A. R.; Maringoni, A. C. Controle da mancha angular do feijoeiro com fungicidas e seu efeito na produção de plantas. **Idesia**, v. 30, n. 2, p. 93-100, 2012. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292012000200012>
- Dingley, J. M. New records of fungous diseases in New Zealand, 1957- 1958. **New Zealand Journal of Agricultural Research** 2, 380-386, 1959
- Duangmal, K.; Apenten, R. K. O. A Comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) and potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, v. 64, n. 3, p. 351-359, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(98\)00127-7](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00127-7)
- Edgington, L.V.; Knew, K. L.; Barron, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazole compounds. **Phytopathology**, v.61, p.42- 44, 1971.
- Eshraghi, L. E.; Anderson, J.; Aryamanesh, N.; Shearer, B.; McComb, J.; Hardy, G. S.; O'Brien, P. A. Phosphite primed defence responses and enhanced expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. **Plant Pathology**, v. 60, n. 6, p. 1086-1095, 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02471.x>

Estep, L. K.; Torriani, S. F.; Zala, M.; Anderson, N. P.; Flowers, M. D.; McDonald, B. A.; Brunner, P. C. Emergence and early evolution of fungicide resistance in North American populations of *Zymoseptoria tritici*, **Plant Pathology**, v. 64, n. 4, p. 961-971, 2015. <https://doi.org/10.1111/ppa.12314>

Fagan, E. B.; Dourado Neto, D.; Vivian, R.; Franco, R. B.; Yeda, M. P.; Massignam, L. F.; Martins, K. V. Efeito da aplicação de piraclostrobina na taxa fotossintética, respiração, atividade da enzima nitrato redutase e produtividade de grãos de soja. **Bragantia**, v. 69, n. 4, p., 2010. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052010000400001>

Fagundes-Nacarath, I. R. F.; Debona, D.; Brás, V. V.; Silveira, P. R.; Rodrigues, F. A. Phosphites attenuate *Sclerotinia sclerotiorum*-induced physiological impairments in common bean. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 40, n. 11, p.198-212, 2018. <https://doi.org/10.1007/s11738-018-2776-7>

Faleiro, F. G.; Junqueira, N. T. V. Maracujá: o produtor pergunta, a Embrapa responde. **Embrapa Cerrados-Livro técnico** (INFOTECA-E), 2016. <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1061917>.

Farr, D. F. Species of *Septoria* on the Fabaceae, subfamily Faboideae, tribe Genistae. *Sydowia*, **Viena**, v. 44, n. 1, p. 13–31, 1992.

Feau, N.; Hamelin, R. C.; Bernier, L. Attributes and congruence of three molecular data sets: Inferring phylogenies among *Septoria*-related species from woody perennial plants. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 40, n. 3, p. 808-829, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.03.029>

Ferreira, D. F. Sisvar: um sistema computacional de análise estatística. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011. <https://doi.org/10.1590/s1413-70542011000600001>.

Ferreira, S. S.; Barros, D. R.; Almeida, M. R.; Zerbini, F. M. Characterization of Passionfruit severe leaf distortion virus, a novel begomovirus infecting passionfruit in Brazil, reveals a close relationship with tomato-infecting begomoviruses. **Plant Pathology**, v. 59, p. 221-230, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2009.02205.x>.

Fetouh, M. I. Effects of tea tree oil vapour on the postharvest quality of sweet basil herb and its relation to peroxidase enzyme activity. **Journal of Agricultural Research. Kafu El-Shaikh University**, v. 41, n. 3, p. 981-992, 2015.

Fischer, I. H.; Rezende, J. A. M. Diseases of passion flower (*Passiflora* spp.). **Pest Technology**, v.2, n. 1, p. 1-19, 2008.

Foyer, C. H.; Noctor, G. Redox signaling in plants. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 18, n.16 p. 2087-2090, 2013. [doi.org/10.1089/ars.2013.5278](https://doi.org/10.1089/ars.2013.5278)

Frac. **Fungicide Resistance in Plant Pathogens**. List of plant pathogenic organisms resistant to disease control agents. Disponível em:

[http://www.frac.info/publication/anhang/List-of-resistant-plant-pathogens\\_2013.pdf](http://www.frac.info/publication/anhang/List-of-resistant-plant-pathogens_2013.pdf). Acesso em: 15 dez. 2021.

Gilardi, G.; Pugliese, M.; Gullino, M. L.; Garibaldi, Effect of biocontrol agents and potassium phosphite against *Phytophthora* crown rot, caused by *Phytophthora capsici*, in zucchini in a closed system without soil. **Scientia Horticulturae**, v. n., p. 265, 109207, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109207>.

Goes, A. Doenças fúngicas da parte aérea da cultura do maracujá. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE A CULTURA DO MARACUJAZEIRO, 1998, Jaboticabal. **Anais [...]**, p 208 – 216, Jaboticabal: FUNEP, 1998.

Guindon S.; Gascuel, O. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. **Systematic Biology**, v.52, n. 5, p. 696–704, 3003. <https://doi.org/10.1080/10635150390235520>

Hammerschmidt, R. Kuc, J. *Induced resistance to disease in plants* (Vol. 4). **Springer Science & Business Media**. 2013.

Havlin, J. L.; Schlegel, A. J. Review of Phosphite as a Plant Nutrient and Fungicide. **Soil Systems**, v. 5, n. 3, p.52-, 2020. <https://doi.org/10.3390/soilsystems5030052>.

Hewitt, H.G. **Fungicides in crop protection**. Oxon, UK: CAB International, 221p, 1998.

IBGE. **Produção agrícola municipal: culturas temporárias e permanentes**. Rio de Janeiro: IBGE, 2018. Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/tabela/5457#resultado>. Acesso em: 18 nov. 2021.

Inch, A.J. Passion fruit diseases. **Queensland Agricultural Journal**, v. 104, n. p. 479-484, 1978.

Jakl, M.; Kovač, I.; Čavar Zeljković, S.; Jaklová Dytrtová, J. Triazole fungicides in soil affect the yield of fruit, green biomass, and phenolics production of *Solanum lycopersicum* L. **Food Chemistry**, v.351, n, p;129328, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.12932>

Junqueira, V. B.; Müller, C.; Rodrigues, A. A.; Amaral, T. S.; Batista, P. F.; Silva, A. A.; Costa, A. C. Fungicides affect the physiology, reproductive development and productivity of healthy soybean plants?. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v..n., p., 172 , 104754, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104754>.

Khalil, I. A.; Mercer, E. I.; Wang, Z. X. Effect of triazole fungicides on the growth, chloroplast pigments and sterol biosynthesis of maize (*Zea mays* L.). **Plant Science**, v. 66, n. 1, p. 21-28, 1990. [https://doi.org/10.1016/0168-9452\(90\)90164-j](https://doi.org/10.1016/0168-9452(90)90164-j)

King, M.; Reeve, W.; Van der Hoek, M.B.; Williams, N.; McComb, J.; O'Brien, P. A.; Hardy, G. E. S. J. Defining the phosphite-regulated transcriptome of the plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 284, n. 6, p. 425-435, 2010. doi

Kobayashi, T; Takashi, O. Notes on plant parasites from Ogasawara and Hahajima, 2003. <http://id.nii.ac.jp/1186/00000179/>.

Kudo, A. S.; Peixoto, J. R.; Junqueira, N. T. V.; Blum, L. E. B. Suscetibilidade de genótipos de maracujazeiro-azedo à septoriose em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 200-205, 2012. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452012000100027>.

Kumar, S.; Stecher, G.; Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. **Molecular Biology and Evolution** 33:1870-1874.

Lee, D. H.; Back, C. G.; Win, N. K. K.; Choi, K. H.; Kim, K. M; Kang, I. K.; Jung, H. Y. Biological characterization of *Marssonina coronaria* associated with apple blotch disease. **Mycobiology**, v.39, n.3, p. 200-205, 2011. <https://doi.org/10.5941/MYCO.2011.39.3.200>

Lehmann, S.; Serrano, M.; L'haridon, F.; Tjamos, S. E.; Metraux, J. P. Reactive oxygen species and plant resistance to fungal pathogens. **Phytochemistry**, v. 112, p. 54-62, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.08.027>.

Li, Z.; Wang, N.; Wei, Y.; Zou, X.; Jiang, S.; Xu, F.; Wang, H.; Shao, X. Terpinen-4-ol enhances disease resistance of postharvest strawberry fruit more effectively than tea tree oil by activating the phenylpropanoid metabolism pathway. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 24, p. 6739–6747, 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01840>

Li, Z.; Wei, Y.; Cao, Z.; Jiang, S.; Chen, Y.; Shao, X. The jasmonic acid signaling pathway is associated with terpinen-4-ol-induced disease resistance against *Botrytis cinerea* in strawberry fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, n. 36, p. 10678-10687, 2021. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c04608>.

Liu, P.; Li, B.; Lin, M.; Chen, G.; Ding, X.; Weng, Q.; Chen, Q. Phosphite-induced reactive oxygen species production and ethylene and ABA biosynthesis, mediate the control of *Phytophthora capsici* in pepper (*Capsicum annuum*). **Functional Plant Biology**, v.43, n. 6, p.563-574, 2016. <https://doi.org/10.1071/FP16006>.

Lobato, M. C.; Olivieri, F. P.; Daleo, G. R.; Andreu, A. B. Antimicrobial activity of phosphites against different potato pathogens. **Journal of Plant Diseases and Protection**, v. 117, n. 3, p. 102-109, 2010.

Louw, A. J. Studies on *Septoria passiflorae* n.sp. occurring on passion fruit with special reference to its parasitism and physiology. **Scientific Bulletin of the South African Department of Agriculture** 229, 51 pp, 1941.

Lovatt, C. J.; Mikkelsen, R. L. Phosphite fertilizers: What are they? Can you use them? What can they do? **Better Crops**, v. 90, n.4, p. 11-13, 2006.

Lucas, J.A.; Hawkins, N.J.; Fraaije, B.A. The evolution of fungicide resistance. **Advances in Applied Microbiology**, v. 90, p. 29-92, 2015. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.09.001>

Macedo, A. C.; Amaro, A.C.E.; Ramos, A. R. P.; Ono, E.O.; Rodrigues, J. D. Strobilurin and boscalid in the quality of net melon fruits. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 38, n. 2, p. 543-550, 2017. 10.5433/1679-0359.2017v38n2p543.

Machado, C. D. F.; Faleiro, F. G.; Santos Filho, H. P.; Fancelli, M.; Carvalho, R. D. S.; Ritzinger, C.; De Novaes, Q. S. Guia de identificação e controle de pragas na cultura do maracujazeiro. **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Livro científico (ALICE)**, 2017.

Mason, H. S. Mechanisms of oxygen metabolism. **Science**, v. 19, p. 79-231, 1957. 10.1126/science.125.3259.1185

McDonald, A. E.; Grant, B. R.; Plaxton, W. C. Phosphite (phosphorous acid): its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. **Journal of Plant Nutrition**, v. 24(10), p. 1505-1519, 2001. <https://doi.org/10.1081/PLN-100106017>.

Meletti, L. M. M. Avanços na cultura do maracujá no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v. 31, p. 83-91, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011000500012>.

Michereff, Sami J.; Andrade, Domingos Egt; Peruch, Luiz AM. Inóculo de patógenos radiculares. **Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais. Recife: UFRPE**, p. 93-124, 2005.

Mihajlovic, M.; Rekanovic, E.; Hrustic, J.; Tanovic, B.; Potocnik, I.; Stepanovic, M.; Milijasevic-Marcic, S. *In vitro* and *in vivo* toxicity of several fungicides and Timorex gold biofungicide to *Pythium aphanidermatum*, **Pestic. Phytomed.** (Belgrade), v. 28, p. 117–123, 2015. 10.2298/PIF1302117M.

Milne, I.; Wright, F.; Rowe, G.; Marshall, D. F.; Husmeier, D.; McGuire, G. TOPALi: software for automatic identification of recombinant sequences within DNA multiple alignments. **Bioinformatics**, v. 20, p. 1806-1807, 2004. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bth155>

Nascimento, A. V. S.; Souza, A. R. R.; Alfenas, P.; Andrade, G. P.; Carvalho, M. G.; Pio-Ribeiro, G.; Zerbini, F. M. Análise Filogenética de Potyvírus Causando Endurecimento dos Frutos do Maracujazeiro no Nordeste do Brasil. **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, p.378-383, 2004. <https://doi.org/10.1590/s0100-41582004000400003>.

Nascimento, T. P. A.; Santos, M. L. Diagnóstico do uso de agrotóxicos em projetos de assentamento no município de conceição do Araguaia –PA. *In*: CONGRESSO

BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL, 3, 2012, Goiânia/GO. **Anais** [...], 19 a 22, Goiânia/GO, 2012.

O'Brien, J. A.; Daudi, A.; Finch, P.; Butt, V. S.; Whitelegge, J. P.; Souda, P.; Bolwell, G. P. A. Peroxidase-dependent apoplastic oxidative burst in cultured Arabidopsis cells functions in MAMP-elicited defense. **Plant Physiology**, v. 158(4), p. 2013-2027, 2012. <https://doi.org/10.1104/pp.111.190140>.

Oliveira, R. J. V.; Lima, T. E. F.; Cunha, I. B.; Coimbra, V. R. M.; Silva, G. A.; Bezerra, J. L.; Cavalcanti, M. A.Q. *Corniculariella brasiliensis*, a new species of coelomycetes in the rhizosphere of *Caesalpinia echinata* (Fabaceae, Caesalpinioideae). **Brazil. Phytotaxa**, v. 178, p. 197–204, 2014. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.178.3.5>.

Oliveira, M. D. M.; Varanda, C. M. R.; Félix, M. R. F. Induced resistance during the interaction pathogen x plant and the use of resistance inducers. **Phytochemistry Letters**, v. 15, p. 152-158, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2015.12.011>.

Oliveira, R. J. V.; Bezerra, J. L.; Lima, T. E. F.; da Silva, G. A.; Cavalcanti, M. D. Q. *Phaeosphaeria nodulispora*, a new endophytic coelomycete isolated from tropical palm (*Cocos nucifera*) in Brazil. **Nova Hedwigia**, v. 103(1/2), p. 185-192. doi:10.1127/nova\_hedwigia/2016/0343

ONDIEK, J. J. J. Diseases and pests of passion fruit in Kenya. **Acta Horticulturae**, v. 49, p. 291-29, 1975.

O'Sullivan, E.; Kildea, S.; Teagasc, O. P. Sensitivity of *Septoria* to fungicides—what's new. *In: National Tillage Conference*, p. 50-59, 2010.

Pacenczuk, F.; Sandini, I. E.; Rodrigues, J. D.; Ono, E. O. Produtos à base de triazol como redutores de crescimento da cultura da soja. **Revista de Ciências Agrárias**, 41(2), 385-393, 2018. <https://doi.org/10.19084/RCA16064>.

Pappas, A. C.; Vellios, E. K.; Mylonopoulos, I. S.; Chatzidimopoulos, M.; Vlassacoudis, A. Sensitivity of *Septoria pyricola* isolates to carbendazim, DMI and QoI based fungicides and to boscalid, in Greece. **Phytopathologia Mediterranea**, v. 49(2), p. 227-238, 2010.

Peruch, L.A.M.; Schroeder, A.L. Maracujazeiro-azedo: polinização, pragas e doenças. **Epagri**: Florianópolis. p. 220, 2018.

Petit, C.; Park, Y.; Lin, K. Y. A.; Park, A. H. A. Spectroscopic investigation of the canopy configurations in nanoparticle organic hybrid materials of various grafting densities during CO<sub>2</sub> capture. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 116(1), p. 516-525, 2012. <https://doi.org/10.1021/jp210391c>.

Pinto, P. H. D.; Peixoto, J. R.; Junqueira, N. T. V.; Mattos, J. K. D. A.; Melo, B. D. Reação de progênies de maracujázedo a septoriose *Septoria passiflorae* Sydow. **Bioscience**, 2006.

Pirovani, C. P.; Carvalho, H. A. S.; Machado, R. C. R.; Gomes, D. S.; Alvim, F. C.; Pomella, A. W. V.; Gramacho, K. P.; Cascardo, J. C. M.; Pereira, G. A. G.; Micheli, F. Protein extraction for proteome analysis from cacao leaves and meristems, organs infected by *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of the witches' broom disease. **Electrophoresis**, v. 29 (11), p. 2391-2401, 2008. <https://doi.org/10.1002/elps.200700743>.

Ponte, J. J. **Doenças do maracujá, *Passiflora edulis* Sims**. Fortaleza: CCA/UFC, 1968.

Ponte, J. J.; Pinheiro, M. F. R.; Franco, A.; Cirino, A. Septoriose, uma importante doença do maracujá no Planalto da Ibiapaba, Ceará. Fortaleza: **Embrapa Comunicado Técnico**, v. 11, 1983.

Popov, E. G.; Talanov, A. V.; Kurets, V. K.; Drozdov, S. N. Effect of temperature on diurnal changes in CO<sub>2</sub> Exchange in intact cucumber plants. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 50, n. 2, p. 178-182, 2003. 10.1023/A:1022964928958.

Punithalingam, E. *Septoria passifloricola*. **CMI Description of Pathogenic Fungi and Bacteria**, v. 670, p. 1-2, 1980.

Quaedvlieg, W.; Verkley, G. J.; Shin, H. D.; Barreto, R. W.; Alfenas, A. C.; Swart, W. J.; Crous, P. W. Sizing up *Septoria*. **Studies in Mycology**, v. 75(1), p. 307-390, 2013. [https://doi.org/10.1016/S0166-0616\(14\)60144-5](https://doi.org/10.1016/S0166-0616(14)60144-5).

Quiroga, M.; Guerrero, C.; Botella, M. A.; Barceló, A.; Amaya, I.; Medina, M. I.; Valpuesta, V. A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. **Plant physiology**, v. 122 (4), p. 1119-1128, 2000. <https://doi.org/10.1104/pp.122.4.1119>.

Ragab, M. M. M.; Saber, M. M.; El-Morsy, S. A.; Abdel-Aziz, A. R. M. Induction of systemic resistance against root rot of basil using some chemical inducers. **Egyptian Journal of Phytopathology**, v. 37, n. 1, p. 59-70, 2009.

Reis, E. M.; Reis, A. C.; Carmona, M. A. **Manual de fungicidas**: guia para o controle químico de doenças de plantas. Passo Fundo: UPF, 2010.

Reuveni, M.; Sanches, E.; Barbier, M. Curative and suppressive activities of essential tea tree oil against fungal plant pathogens. **Agronomy**, v. 10(4), p. 609. <https://doi.org/10.3390/agronomy10040609>

Rizzi, L. C.; Rabello, L. R.; Morozini Filho, W.; Savasaki, E. T.; Kavati, R. Cultura do maracujá azedo. Campinas: **CATI**, v. 235, p. 54, 1998.

Rodrigues, Marco Antonio Tavares. **Avaliação do efeito fisiológico do uso de fungicidas na cultura de soja**. 2009. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz". Piracicaba, 2009.

Romero, R. S.; García, F. A. O. Indução de resistencia em plantas a patógenos por eliciadores de natureza bacteriana. Biocontrole de doenças de plantas: Uso e Perspectivas. **Embrapa Meio Ambiente**, p. 85-99, 2009.

Scandalios, J. G. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 38, n. 7, p. 995-1014, 2005.

Schmidt, E. R.; Oliari, L. S.; Schmidt, O.; Alexandre, R. S.; Pires, F. R. Determinação da área foliar de *Passiflora mucronata* a partir de dimensões lineares do limbo foliar. **Revista Agro@ mbiente On-line**, v. 10(4), p. 351-357, 2017. <http://dx.doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v10i4.3720>

Schock, A. A. **Respostas fisiológicas em plantas jovens de *Jatropha curcas* L. submetidas à estrobilurina e alagamento**. 2015. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Pelotas, 2015.

Schwan-Estrada, K. R. F.; Stangarlin, J. R.; Cruz, M. E. Da S. Uso de extratos vegetais no controle de fungos fitopatogênicos. **Floresta**, v.30, p.129-137, 2000.

Shao, X.; Cheng, S.; Wang, H.; Yu, D.; Mungai, C. The possible mechanism of antifungal action of tea tree oil on *Botrytis cinerea*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114(6), p. 1642-1649, 2013. <https://doi.org/10.1111/jam.12193>.

Silva, J. C. D.; Meyer, M. C.; Coutinho, W. M.; Suassuna, N. D. Fungitoxicidade de grupos químicos sobre *Myrothecium roridum* in vitro e sobre a mancha-de-mirotécio em algodoeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, p. 755-761, 2006. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2006000500006>

Singh, G.; Sahota, H. K. Impact of benzimidazole and dithiocarbamate fungicides on the photosynthetic machinery, sugar content and various antioxidative enzymes in chickpea. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 132, p. 166-173, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.09.001>.

Smith, P. **Agro projects: disease projects**. Surrey, UK: PJB Publ, 2002.

Sorg, O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality?. **Comptes rendus biologiques**, v. 327(7), p. 649-662, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.crvl.2004.05.007>.

Stangarlin, J. R.; Kuhn, O. J.; Toledo, M. V.; Portz, R. L.; Schwan-Estrada, K. R. F.; Pascholati, S. F. A defesa vegetal contra fitopatógenos. **Scientia Agraria Paranaensis**, v. 10, n. 1, p. 18-46, 2011. <https://doi.org/10.18188/sap.v10i1.5268>.

Stefanello, M. T. **Mancozebe influencia a persistência de fungicidas inibidores da desmetilação e inibidores da quinona oxidase em cultivares de soja**. 2017. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Santa Maria, 2017.

Stepanovic, M.; Jevremovic, S.; Rekanovic, E.; Mihajlovic, M.; Milijasevic-Marcic, S.; Potocnik, I.; Todorovic, B. In vitro sensitivity of *Alternaria solani* to conventional fungicides and a biofungicide based on tea tree essential oil. **Pesticide Phytomed**, 2015. 10.2298/PIF1501025S

- Sussel, A. A. B. Manejo de doenças fúngicas em goiaba e maracujá. **Embrapa Cerrados-Documentos** (INFOTECA-E), 2010.
- Sutton, B.C. The Coelomycetes. Fungos imperfeitos com picnídios, acérvulos e estrom. **Commonwealth Mycological Institute**, 1980.
- Sydow, H. Fungi Aequatoriensis First series. **Annals of Mycology**, v. 37, p. 275-438, 1939.
- Taiz, L.; Zeiger, E. **Fisiologia vegetal**. 5. ed., Artmed, p. 918, 2013.
- Terzi V.; Morcia C.; Faccioli P.; Valè G.; Tacconi G.; Malnati M. In vitro antifungal activity of the tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oil and its major components against plant pathogens. **Letters in Applied Microbiology**, v. 44(6), p. 613–618, 2007. doi:10.1111/j.1472-765x.2007.02128.
- Teske, M. Trentini, A.M.M. **Compêndio de fitoterapia**. 3. ed. revisada. Curitiba, Ingra, 1997.
- Thakur, M.; Sohal, B. S. Role of elicitors in inducing resistance in plants against pathogen infection: a review. **ISRN biochemistry**, v. 2013, p. 1-10, 2013.
- Thaochan N.; Pornsuriya C.; Chairin T.; Sunpapao A. Roles of systemic fungicide in antifungal activity and induced defense responses in rubber tree (*Hevea brasiliensis*) against leaf fall disease caused by *Neopestalotiopsis cubana*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 2020. doi:10.1016/j.pmpp.2020.101511.
- Thipyapong, P.; Hunt, M. D.; Steffens, J. C. Antisense downregulation of polyphenol oxidase results in enhanced disease susceptibility. **Planta**, v. 220, n. 1, p. 105-117, 2004. 10.1007/s00425-004-1330-6.
- Thomas, T. H. Investigations into the cytokinin-like properties of benzimidazole-derived fungicides. **Annals of Applied Biology**, 76(2), 237-241, 1974.
- Tiwari, S.; Singh, S.; Tripathi, S.; Kumar, S. A. Pharmacological review: *Passiflora* species. **International Journal of Pharmacognosy**, v.3, n.1, p. 10-18, 2016. 10.5958/2231-5691.2015.00030.1.
- Tok, F.M. Controle químico da mancha de *Septoria* da salsa causada por *Septoria petroselini*. **Jornal Turco de Agricultura e Silvicultura**, v. 32, n. 6, pág. 487-494, 2008.
- Trujillo E.E.; Norman D.J.; Killgore E.M. *Septoria* leaf spot, a potencial biological control for banana poka vine in forests of Hawaii. **Plant Disease**, v. 78, p. 883-885, 1994.
- Tsai, Y. C.; Kao, C. H. The involvement of hydrogen peroxide in abscisic acid-induced activities of ascorbate peroxidase and glutathione reductase in rice roots. **Plant growth regulation**, v. 43(3), p. 207-212, 2004. 10.1023/B:GROW.0000046001.24746.df.

Vámos-Vigyázó, L.; Haard, N. F. Polyphenol oxidases and peroxidases in fruits and vegetables. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 15(1), p. 49-127, 1981.

Van Breusegem, F.; Vranova, E.; Dat, J. F.; Inze, D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, v. 161, n. 3, p. 405-414, 2001.  
[https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00452-6](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00452-6).

Venancio, W. S.; Rodrigues, M. A. T.; Begliomini, E.; Souza, N. L. D. Physiological effects of strobilurin fungicides on plants. Publicatio. **UEPG: Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias**, v. 9, n. 3, p. 59-68, 2003.  
<https://doi.org/10.5212/publicatio.v9i03.814>.

Verkley, G. J.; Starink-Willemse, M.; van Iperen, A.; Abeln, E. C. Phylogenetic analyses of *Septoria* species based on the ITS and LSU-D2 regions of nuclear ribosomal DNA. **Mycologia**, v. 96(3), p. 558-571, 2004.  
<https://doi.org/10.1080/15572536.2005.11832954>.

Viana, F. M. P.; Freire, F.; Cardoso, J. E.; Vidal, J. C. Principais doenças do maracujazeiro na Região Nordeste e seu controle. **Embrapa Agroindústria Tropical- Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2003.

Wang S.J.; Wang J.C.; Gao Z.M.; Liu X.Y. Study on Chemical Control of Figwort Spot Caused by *Septoria scrophulariae* West. **Modern Agricultural Sciences**, v. 06, 2009.

Wellburn, A.R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. **Journal of Plant Physiology**, v. 144, p. 307-314, 1994.

Wijayawardene N.N, Hyde KD, Dai DQ, Sánchez-García M, Goto BT, Saxena RK, Erdoğdu M, Selçuk F, Rajeshkumar KC, Aptroot A, Błaszowski J, Boonyuen N, da Silva GA, de Souza FA, Dong W4, Ertz D, Haelewaters D, Jones EBG, Karunarathna SC, Kirk PM, Kukwa M, Kumla J, Leontyev DV, Lumbsch HT, Maharachchikumbura SSN, Marguno F, Martínez-Rodríguez P, Mešić A, Monteiro JS, Oehl F, Pawłowska J, Pem D, Pfliegler WP, Phillips AJL, Pošta A, He MQ, 55 Li JX, Raza M, Sruthi OP, Suetrong S, Suwannarach N, Tedersoo L, Thiyagaraja V, Tibpromma S, Tkalčec Z, Tokarev YS, Wanasinghe DN, Wijesundara DSA, Wimalaseana SDMK, Madrid H, Zhang GQ, Gao Y, Sánchez-Castro I, Tang LZ, Stadler M, Yurkov A, Thines M 2022 – Outline of Fungi and fungus-like taxa.. **Mycosphere** 13(1), 53–453, 2021.  
[10.5943/mycosphere/13/1/2](https://doi.org/10.5943/mycosphere/13/1/2)

Wu Y.X.; Tiedemann A.V. Impact of fungicides on active oxygen species and antioxidant enzymes in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) exposed to ozone. **Environmental Pollution**, v. 116(1), p. 37-47, 2002.  
[https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(01\)00174-9](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(01)00174-9).

Wu Y.X.; Tiedemann A.V. Physiological effects of azoxystrobin and epoxiconazole on senescence and the oxidative status of wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 71(1), p. 1-10, 2001. <https://doi.org/10.1006/pest.2001.2561>.

Yamashiro, T. Principais doenças fúngicas e bacterianas no maracujazeiro, encontradas no Brasil. **A Cultura do Maracujá no Brasil**, FUNEP, Jaboticabal, p. 169-174, 1991.

Yáñez Juárez, M. G.; Ayala Tafoya, F.; Partida Ruvalcaba, L.; Velázquez Alcaraz, T. D. J.; Godoy Angulo, T. P.; Medina Lópe. Efecto in vitro de fosfito de potasio sobre *Athelia rolfsii* y *Pythium aphanidermatum*. **Revista Mexicana de Ciências Agrícolas**, v. 9(7), p. 1532-1538, 2018. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i7.286>.

Yorinori, J.T. Controle integrado das principais doenças da soja. *In*: CÂMARA, G. M.S. **Soja: tecnologia da produção II**. Piracicaba: ESALQ, LPV, p.203-221, 2000.

Yu D.; Wang J.; Shao X.; Xu F.; Wang H. Antifungal modes of action of tea tree oil and its two characteristic components against *Botrytis cinerea*. **Journal of Applied Microbiology**, v. 119 (5), p. 1253–1262, 2015. doi: 10.1111 / jam.12939.

Yuan, Y. J.; Li, C.; Hu, Z. D.; Wu, J. C. A double oxidative burst for taxol production in suspension cultures of *Taxus chinensis* var. *mairei* induced by oligosaccharide from *Fusarium oxysprum*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 30, n. 6, p. 774-778, 2002. [https://doi.org/10.1016/S0141-0229\(02\)00057-1](https://doi.org/10.1016/S0141-0229(02)00057-1).

Zhang Y.J.; Zhang X.; Chen C.J.; Zhou M.G.; Wang H.C. Effects of fungicides JS399-19, azoxystrobin, tebuconazole, and carbendazim on the physiological and biochemical indices and grain yield of winter wheat. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 98(2), p. 151–157, 2010. doi:10.1016/j.pestbp.2010.04.007.

Ziogas B.N.; Malandrakis A.A. Sterol Biosynthesis Inhibitors: C14 Demethylation (DMIs). **Fungicide Resistance in Plant Pathogens**, 2015. 199–216. doi:10.1007/978-4-431-55642-8\_13.