

**FACULDADE DE ENSINO SUPERIOR DO CENTRO DO PARANÁ
ENGENHARIA AGRONÔMICA**

BRUNA DE OLIVEIRA

**COMPARAÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE PARA *BOTRYTIS CINEREA*:
AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E EXTRATOS DE
PLANTAS EM CULTURA *IN VITRO* E *IN VIVO* EM FRUTOS DE GOIABEIRA
SERRANA (*ACCA SELLOWIANA*)**

PITANGA

2023

BRUNA DE OLIVEIRA

**COMPARAÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE PARA *BOTRYTIS CINEREA*:
AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E EXTRATOS DE
PLANTAS EM CULTURA *IN VITRO* E *IN VIVO* EM FRUTOS DE GOIABEIRA
SERRANA (*ACCA SELLOWIANA*)**

Trabalho De Curso apresentado ao Curso de Engenharia Agrônômica, Área das Ciências Agrárias da Faculdade UCP Faculdade de Ensino Superior do Centro do Paraná, como requisito à obtenção de grau de Bacharel em Engenharia Agrônômica.

Orientador: James Matheus Ossacz Laconski
Coorientador: Felipe Augusto Moretti Ferreira Pinto

PITANGA-PARANÁ

2023

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	3
LISTA DE FIGURAS.....	4
LISTA DE EQUAÇÕES	5
RESUMO	6
ABSTRACT	6
1. INTRODUÇÃO.....	7
2. MATERIAL E MÉTODOS	9
2.1. Ensaio <i>In vivo</i>	10
2.2. Ensaio <i>In vitro</i>	13
2.3. Análise de dados.....	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	14
3.1. Ensaio <i>In vivo</i>	14
3.2. Ensaio <i>In vitro</i>	18
4. CONCLUSÃO.....	20
5. AGRADECIMENTOS.....	20
6. REFERÊNCIAS	21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Descrição, constituição e características dos compostos que constituem os tratamentos para os estudos *in vivo* e *in vitro* para controle de *B. cinerea*. São Joaquim-SC. 2023..... 10

Tabela 2. Descrição dos tratamentos e doses utilizadas para os estudos *in vivo* e *in vitro* para controle de *B. cinerea*. São Joaquim-SC. 2023..... 10

Tabela 3. Concentração de conídios de *B. cinerea* em frutos de goiaba serrana.... 16

Tabela 4. Concentração de conídios de *B. cinerea* e índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ambos em meio de cultura..... 19

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Imagem demonstrativa dos campos constituintes da Câmara de Neubauer. Tabela utilizada na estação experimental de São Joaquim. Fonte: Adaptado de Splabor (2016). **Erro! Indicador não definido.**

Figura 2. Área a baixo da curva de progresso da doença (AACPD) em frutos de goiaba serrana. Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Epagri, São Joaquim-SC. Fonte: Dos Autores, 2023. **Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Concentração Experimento <i>In vitro</i>	9
Equação 2. Concentração de conídios em Câmara de Neubauer	11
Equação 3. Área a baixo da curva do progresso da doença	12
Equação 4. Índice de velocidade de crescimento micelial	13
Equação 5. Concentração de conídios em Câmara de Neubauer	14

**COMPARAÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE PARA *BOTRYTIS CINEREA*:
AVALIAÇÃO DE COMPOSTOS QUÍMICOS, BIOLÓGICOS E EXTRATOS DE
PLANTAS EM CULTURA *IN VITRO* E *IN VIVO* EM FRUTOS DE GOIABEIRA
SERRANA (*ACCA SELLOWIANA*)**

**COMPARISON OF CONTROL AGENTS FOR *BOTRYTIS CINEREA*:
EVALUATION OF CHEMICAL, BIOLOGICAL COMPOUNDS AND PLANT
EXTRACTS IN *IN VITRO* AND *IN VIVO* CULTURE IN SERRANA GOIABEIRA
(*ACCA SELLOWIANA*) FRUITS**

OLIVEIRA, Bruna de¹
LACONSKI, James Matheus Ossacz²
PINTO, Felipe Augusto Moretti Ferreira³

RESUMO

A goiabeira serrana (*Acca sellowiana*) é uma espécie frutífera que vem se destacando na região sul do Brasil. Uma das principais doenças que acomete a cultura é causada pelo fungo *Botrytis cinerea*, contudo não há produtos registrados no MAPA para o controle da doença nessa espécie vegetal. A partir disso o objetivo do trabalho foi avaliar o uso de diversos produtos químicos, biológicos e extrato de planta no controle desse patógeno. O experimento contou com testes *in vivo* e *in vitro* com os seguintes tratamentos: T1 - Testemunha (*In vivo*: sem pulverização; *In vitro*: somente BDA (Batata-Dextrose-Ágar); T2 - (*Sophora flavescens*, 140 mL/100 L); T3 - (pirimetanil, 150mL mL/100 L); T4 - (captana, 250mL mL/100 L); T5 - (*Melaleuca alternifolia*, 375 mL/100 L); T6 - (*Bacillus subtilis*, 666,6 mL/100 L); T7 - (mancozebe, 200 g/100 L); T8 - (tiofanato metílico, 70 g/100 L); T9 - (*Bacillus amyloliquefaciens*, 1,0 kg/ 100 L). No experimento *in vivo* os fungicidas químico captana e pirimetanil e o extrato de *Sophora flavescens* demonstraram eficiência na redução da área abaixo da curva de progresso da doença e na concentração de conídios de *B. cinerea*, os demais tratamentos não tiveram diferença em relação a testemunha. *In vitro* os tratamentos captana, *Bacillus subtilis*, mancozebe, tiofanato metílico, *Bacillus amyloliquefaciens* apresentaram altos índices de controle sobre a esporulação de *Botrytis cinerea*. Os tratamentos Pirimetanil, captana, *Bacillus subtilis*, mancozebe, tiofanato metílico, *Bacillus amyloliquefaciens* são capazes de cessar de forma integral o crescimento de colônias de *B. cinerea* em meio de cultura

Palavras-chave: Feijoa. Tiofanato metílico. *Bacillus*. Conídios.

ABSTRACT

The feijoa (*Acca sellowiana*) is a fruit species that has become prominent in the southern region of Brazil. One of the main diseases that affects the crop is caused by

¹Bruna de Oliveira, discente do curso de engenharia agrônômica da Faculdade do Centro do Paraná (UCP). e-mail: oliveiralunke@yahoo.com.br

²James Matheus Ossacz Laconski, docente do curso de engenharia agrônômica da Faculdade do Centro do Paraná (UCP). e-mail: prof_jamesmatheus@ucpparana.edu.br

³Felipe Augusto Moretti Ferreira Pinto, pesquisador do departamento de fitopatologia, da Estação Experimental de São Joaquim-SC (Epagri). e-mail: felipepinto@epagri.sc.gov.br

the fungus *Botrytis cinerea*, however there are no products registered with MAPA to control the disease in this plant species. From this, the objective of the work was to evaluate the use of various chemical, biological products and plant extracts to control this pathogen. The experiment included *in vivo* and *in vitro* tests with the following treatments: T1 - Control (In vivo: without spraying; In vitro: only PDA (Potato-Dextrose-Agar); T2 - (*Sophora flavescens*, 140 mL/100 L) ; T3 - (pyrimethanil, 150mL mL/100 L); T4 - (captan, 250mL mL/100 L); T5 - (*Melaleuca alternifolia*, 375 mL/100 L); T6 - (*Bacillus subtilis*, 666.6 mL/100 L); T7 - (mancozeb, 200 g/100 L); T8 - (methyl thiophanate, 70 g/100 L); T9 - (*Bacillus amyloliquefaciens*, 1.0 kg/ 100 L). In the *in vivo* experiment, chemical fungicides captan and pyrimethanil and the extract of *Sophora flavescens* demonstrated efficiency in reducing the area below the disease progress curve and in the concentration of *B. cinerea* conidia, the other treatments had no difference in relation to the control. *In vitro*, the pegan, *Bacillus* treatments *subtilis*, mancozeb, methyl thiophanate, *Bacillus amyloliquefaciens* showed high levels of control over the sporulation of *Botrytis cinerea*. The treatments Pyrimethanil, Captan, *Bacillus subtilis*, mancozeb, methyl thiophanate, *Bacillus amyloliquefaciens* are capable of completely stopping the growth of *B. cinerea* in culture medium.

Keywords: Feijoa. Methyl thiophanate. *Bacillus*. Conidia

1. INTRODUÇÃO

A goiabeira serrana (*Acca sellowiana*, sinônimo *Feijoa sellowiana*) é uma espécie frutífera nativa do planalto meridional brasileiro e do nordeste do Uruguai. Pertencente à família Myrtaceae, a espécie é denominada, no Uruguai, como 'guayabo', mas internacionalmente é conhecida como 'Feijoa' (AMARANTE et al., 2011). Na natureza é encontrada principalmente em regiões que têm ocorrência de matas e bosques de araucárias com altitudes acima de 1.000 metros (MORETTO, 2014).

Devido à goiabeira serrana possuir alto potencial organoléptico, os estudos com a espécie vêm sendo elaborado desde a década de 80, por instituições como a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), em conjunto com a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O crescente interesse no estudo da cultura é devido as suas diversas potencialidades, tais como: consumo do seu fruto *in natura* ou processado, uso das suas pétalas para consumo humano, seja em decorações de pratos saladas ou doces, é usada também como planta ornamental, além de ser adaptada para regiões frias do sul do país (CIOTTA et al., 2018).

Os frutos da *A. sellowiana* são ricos em propriedades antibacteriana, antioxidante e antialérgica, auxilia no sistema imunológico, respondendo a ações

inflamatórias, evidenciados em estudos farmacológicos, mostram que os flavonoides presentes nos frutos atuam em casos de leucemia, levando a morte celular de células tumorais (AMARANTE et al., 2011). Molina (2021) complementa afirmando que em relação aos frutos da goiaba comum (*Psidium guajava*) os frutos das duas espécies são semelhantes, entretanto os frutos da *A. sellowiana* não mudam de cor durante seu processo de amadurecimento.

No Brasil a goiaba serrana ainda é pouco conhecida, mas em outras partes do mundo como a Nova Zelândia, Estados Unidos e Colômbia, ocupa lugar de destaque entre as frutíferas. Dentre os Estados Brasileiros Santa Catarina é a região mais adaptada para seu cultivo, no ano de 2020 o Estado contava com cerca de 20 agricultores familiares, produzindo em média 15 a 20 ton/ha em uma área próxima de 12 hectares, o potencial produtivo da cultura é atingido após quatro anos (CANTARELI et al., 2020).

Segundo Araujo et al. (2016), o principal fator limitante na produção de frutíferas de clima temperado são as pragas e doenças, que causam grandes prejuízos aos produtores, além de aumentar os custos de produção no controle das mesmas. Dentre as principais pragas que acometem a goiaba serrana podemos destacar mosca-dasfrutas (*Anastrepha fraterculus*), o gorgulho do fruto (*Conotrachelus* sp.) e a trips (*Phrasterothrios* sp.) e dentre as doenças destacamos o fungo (*Botrytis cinerea*), que causa a podridão cinzenta e (*Colletotrichum* spp.) que causa a antracnose (CARDOSO, 2009; SANTOS et al., 2011; DELGADO et al., 2013; KULIKA, 2018).

O controle de *B. cinerea* é dificultado devido ao patógeno possuir uma vasta gama de hospedeiros, ser um fungo saprófita e principalmente por formar estruturas de resistência (escleródios), devido a isso consegue permanecer em dormência por um longo período (CUZZI, 2013). Tófoli et al. (2011) explicam que o patógeno acomete principalmente flores e frutos, mas em alguns casos, pode causar manchas nas folhas, apodrecimento de brotos, tombamento em plântulas, cancrs nos ramos e podridões em bulbo, rizomas e raízes.

Atualmente não existem produtos registrados no MAPA para controle de *B. cinerea* na goiaba serrana, o que se tem feito é a utilização de fungicidas registrados para outras culturas, por exemplo a videira. Entre os princípios ativos podemos citar: captana, clorotalonil, procimidona, mancozebe e tiofanato metílico (CIOTTA et al., 2018). Para o controle eficiente do gênero *Botrytis* devem ser seguidas todas as recomendações do fabricante quanto à dose, volume de calda, intervalos de

aplicação, uso de (EPI) e realização da aplicação de fungicidas preventivos, assim que as condições meteorológicas sejam favoráveis, isso em áreas com histórico da doença (TÖFOLI et al., 2011).

Para evitar a proliferação da doença em pomares e aumentar a produtividade a EPAGRI de São Joaquim vem trabalhando com o melhoramento genético da goiaba serrana e entre as cultivares lançadas, a Nonante-SCS 415 está entre as mais tolerantes em relação ao patógeno (CIOTTA et al., 2018).

Desse modo o objetivo do trabalho foi avaliar o uso de diferentes produtos químicos, biológicos e extrato de planta no controle da *B. cinerea in vitro* e *in vivo* em frutos de goiabeira serrana cultivar Nonante-SC 415.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no laboratório de fitopatologia da Estação Experimental da Epagri de São Joaquim, Santa Catarina (SC). O experimento contou com dois métodos de teste sendo um em *in vivo* e outro *in vitro*, cujos tratamentos envolvem produtos químicos, biológicos e extrato de plantas, os quais têm sua constituição e características expressas na tabela 1.

Os estudos foram constituídos por 9 tratamentos, a tabela 2 representa a descrição dos tratamentos e as doses utilizadas para os estudos *in vivo* e *in vitro*.

Devido à ausência de informações em relação a recomendações de concentração de produtos químicos, biológicos e extrato de plantas para o cultivo da goiaba serrana, utilizou-se as doses indicadas para o cultivo de frutíferas de clima temperado. As concentrações para a condução do experimento *in vitro* foram obtidas a partir da seguinte equação:

$$C_i \cdot V_i = C_f \cdot V_f \quad (1)$$

Na amostra, a concentração inicial é indicada por 'Ci', volume inicial é determinado por 'Vi'; 'Cf' refere-se à concentração final e 'Vf' corresponde ao volume final da concentração desejada. A partir desta equação foi possível obter a concentração ideal dos tratamentos para a condução do experimento *in vitro*.

Tabela 1. Descrição, constituição e características dos compostos que constituem os tratamentos para os estudos *in vivo* e *in vitro* para controle de *B. cinerea*. São Joaquim-SC. 2023.

Composto	Classe	Modo de ação	Constituição do p.c. utilizado
<i>Sophora flavescens</i>	Alcalóides quinolizidinicos	Não identificado	Extrato etanólico de <i>Sophora flavescens</i> (19,05% m/v)
Pirimetanil	Anilino pirimidina	Inibição da síntese de metionina (FRAC, 2022)	(30 % m/v)
Captana	Dicarboxamida	Atividade de contato multissítio (FRAC, 2022)	(48,0% m/v)
<i>Melaleuca alternifolia</i>	Extrato vegetal	Desregulação da membrana celular (FRAC, 2022)	Extrato de <i>Melaleuca alternifolia</i> (22,25% m/v)
<i>Bacillus subtilis</i> QST713	Microbiológico	Competição, micoparasitismo antibiose, desregulação da membrana (FRAC, 2022)	(mínimo de 1×10^9 UFC/g de ativo) (1,37 % m/v)
Mancozebe	Ditocarbamato	Atividade de contato multissítio (FRAC, 2022)	(80,0% m/m)
Tiofanato Metílico	Benzimidazol	Montagem de β -tubulina na mitose (FRAC, 2022)	(87,5 % m/m)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MBI600	Microbiológico	Competição, micoparasitismo antibiose, desregulação da membrana (FRAC, 2022)	(mínimo de $5,5 \times 10^{10}$ esporos viáveis/g) (11% m/m)

Tabela 2. Descrição dos tratamentos e doses utilizadas para os estudos *in vivo* e *in vitro* para controle de *B. cinerea*. São Joaquim-SC. 2023.

Tratamentos	Doses	
	<i>In vivo</i> (p.c./100 L)	<i>In vitro</i> (mL ou g/ 100 mL de meio de cultura)
1 - Testemunha	Sem aplicação	Somente meio de cultura
2 - <i>Sophora flavescens</i>	140 mL	0,14 mL
3 - Pirimetanil	150 mL	0,15 mL
4 - Captana	250 mL	0,25 mL
5 - <i>Melaleuca alternifolia</i>	375 mL	0,15 mL
6 - <i>Bacillus subtilis</i> QST713	665 mL	0,2 mL
7 - Mancozebe	200 g	0,2 g
8 - Tiofanato Metílico	70 g	0,1 g
9 - <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MBI600	1,0 kg	0,05 g

2.1. Ensaio *In vivo*

Os frutos da variedade Nonante-SC 415 foram colhidos nos campos da Estação e levados para a sala de inoculação, foram acondicionados em bandejas plásticas de 10L (16 x 40 x 29 cm). O ensaio foi conduzido sob delineamento inteiramente

casualizado com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por três frutos, totalizando 108 frutos.

Em seguida foi realizado um fermento/fruto com o auxílio de um conjunto de agulhas entomológicas, a seguir os tratamentos foram pulverizados com um pulverizador manual. Posterior à secagem dos tratamentos foi obtida uma suspensão de inóculo *B. cinerea* (isolado 2418) com concentração de conídios de 5×10^5 mL. Em seguida, foi disposto 200 μ L dessa concentração de conídios sobre o fermento. Conídios esses que foram obtidos após a raspagem de duas placas de Petri da coleção do laboratório de Fitopatologia da Estação Experimental de São Joaquim, que continha colônias do patógeno, sendo esses conídios transferidos para um béquer com água destilada estéril.

Com o auxílio de um microscópio de luz e Câmara de Neubauer, foram determinadas a concentração de conídios na amostra, a partir do seguinte método: a Câmara de Neubauer foi colocada sob o microscópio óptico (objetiva de 10x), e com auxílio de um contador manual foi realizado a contagem dos dois lados da Câmara (A e B) (câmara inteira), na figura um está demonstrado os campos constituintes de um lado da Câmara e por fim determinado a concentração de conídios para ser utilizado na inoculação dos frutos com a seguinte equação:

$$CC = (A + B + C + D + E) \cdot 2.000 \quad (2)$$

Em que 'CC' é equivalente a concentração de conídios/mL; 'A' primeiro quadrante; 'B' segundo quadrante; 'C' quarto quadrante; 'D' quarto quadrante e 'E' quinto quadrante. A multiplicação por 2.000 é justificada devido a utilização dos cinco quadrantes na contagem de esporos.

A contagem de esporos se deu através da técnica de zigue-zague, que consiste em iniciar sob um ponto seguindo um padrão de linhas lineares, alternando a direção formando linhas quebradas. Além disso, utilizou-se a regra da letra "L", que consistiu em contabilizar os esporos que se apresentavam sobre as linhas limites acima e do lado esquerdo do quadrante, já os esporos que estavam nas divisórias de baixo e do lado direito do quadrante não foram contadas, utilizou-se a metodologia de VEZZOSO et al. (2020).

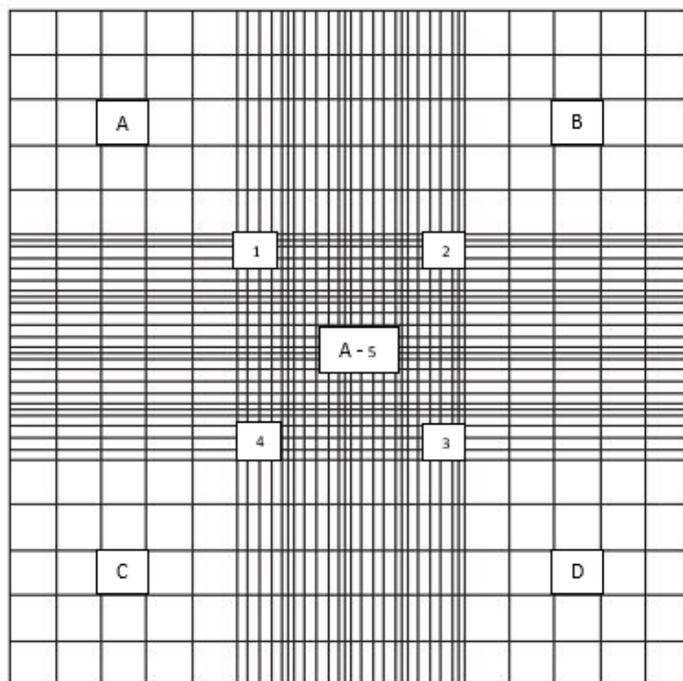


Figura 1. Imagem demonstrativa dos campos constituintes da Câmara de Neubauer. Tabela utilizada na estação experimental de São Joaquim. Fonte: Adaptado de Splabor (2016).

Posteriormente à inoculação, os frutos foram mantidos em câmara úmida com temperatura de 20°C, processo esse que se iniciou no dia 26 de maio de 2023.

As variáveis analisadas foram: diâmetro da lesão e a concentração de conídios. Aos três, sete e dez dias após a inoculação do patógeno, com auxílio de um paquímetro digital foram analisados o diâmetro da lesão. Com esses dados calculou-se a área abaixo da curva do progresso da doença, com a seguinte equação proposta por Campbell e Madden (1990):

$$AACPD = [(y1 + y2) / (t2 - t1)] \quad (3)$$

Em que 'AACPD' correspondeu à área abaixo da curva de progresso da doença; 'y1 e y2' refere-se à duas avaliações consecutivas de diâmetro e t1 e t2 corresponde ao número de dias após a inoculação.

Aos 12 dias após a inoculação do patógeno nos frutos, determinou-se a concentração de conídios na amostra. Cada repetição passou por uma lavagem com 50mL de água destilada, na sequência, uma alíquota de 200 µL foi extraída da suspensão de conídios e transferida para a Câmara de Neubauer. Posteriormente

realizado o mesmo método de obtenção de conídios citado anteriormente na equação 2.

2.2. Ensaio *In vitro*

Todos os tratamentos foram incorporados em 100mL do meio de cultura BDA (Batata-Dextrose-Ágar) já autoclavado, dose essa que foi distribuída em cinco placas de Petri de 80cm de diâmetro.

O ensaio foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado com cinco repetições sendo cada repetição constituída por cinco placas de Petri. Após a solidificação do meio foi adicionado um plugue de 5,5 de diâmetro de um meio de cultura contendo propágulos do fungo *B. cinerea* da coleção do laboratório de fitopatologia da estação experimental da Epagri de São Joaquim. Todas as placas foram armazenadas em uma incubadora (BOD), com temperatura de 20°C, sob ausência de luz. Processo esse que ocorreu dia 30 de maio de 2023.

Aos dois, três e seis dias após a incubação, avaliou-se o crescimento do fungo em meio de cultura. Variável essa que foi obtida por meio do comprimento e diâmetro do micélio que se desenvolvia na placa contendo os respectivos tratamentos. Por meio desses dados calculou-se o índice de velocidade de crescimento micelial, por meio da equação proposta por Oliveira (1991):

$$IVCM = \Sigma ((D - Da)/N) \quad (4)$$

Em que 'IVCM' refere-se à índice de velocidade de crescimento micelial; a sigla 'D' é o diâmetro médio da colônia; 'Da' corresponde ao diâmetro médio da colônia do dia anterior e 'N' é o número de dias após a inoculação.

Aos 30 dias após a incubação, determinou-se a concentração de conídios na amostra. Cada repetição recebeu 10mL de água destilada, na sequência realizado a raspagem para liberação total dos conídios, uma alíquota de 200 µL foi extraída da suspensão de conídios e transferida para a Câmara de Neubauer. A mesma foi colocada sob o microscópio óptico (objetiva de 10x), e com auxílio de um contador manual foi realizado a contagem dos dois lados da Câmara (A e B) (câmara inteira) e por fim determinado a concentração de conídios, através da equação com a seguinte equação:

$$CC = (1 + 2 + 3 + 4 + 5) \cdot 50.000 \quad (5)$$

'CC' é equivalente a concentração de conídios/mL; '1' primeiro quadrante; '2' segundo quadrante; '3' quarto quadrante; '4' quarto quadrante e '5' quinto quadrante. A multiplicação por 50.000 é devido utilizar apenas o quadrante 'E' na contagem de esporos.

2.3. Análise de dados

Os resultados obtidos em ambos os ensaios foram submetidos a análise de variância, e as médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a uma probabilidade de erro de 5% utilizando o software SISVAR (FERREIRA, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Ensaio *In vivo*

A análise de variância entre os tratamentos para concentração de conídios de *B. cinerea* nos frutos da goiabeira serrana demonstrou diferenças a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott (Tabela 1). Os tratamentos *Sophora flavescens* proporcionou média de $0,55 \times 10^5/\mu\text{L}$, pirimetanil $0,72 \times 10^5/\mu\text{L}$, captana $0,14 \times 10^5/\mu\text{L}$ de conídios na solução e foram os tratamentos que melhor obtiveram controle em relação a esporulação do fungo nos frutos da goiaba serrana. Já à *Melaleuca alternifolia*, *B. subtilis*, mancozebe e tiofanato metílico apresentaram $2,02 \times 10^5/\mu\text{L}$, $1,70 \times 10^5/\mu\text{L}$, $1,78 \times 10^5/\mu\text{L}$, $1,80 \times 10^5/\mu\text{L}$ de conídios respectivamente na composição e não diferem da testemunha que obteve $1,31 \times 10^5/\mu\text{L}$ de conídios. O tratamento 9 (*B. amyloliquefaciens*) foi o qual manifestou menor controle com $3,74 \times 10^5/\mu\text{L}$ de conídios na solução.

Gomes (2017) descreve a constituição do extrato de *Sophora flavescens*, pertencente à família das Fabaceae, que suas raízes são ricas em Matrine (MT)($\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}$) e Oxymatrine ($\text{C}_{15}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$), esses alcaloides são compostos heterocíclico que se derivam da quinolizidina e possuem alto potencial biocida. Silva et al. (2011), relataram que o extrato de nim (*Azadirachta indica* e *A. Jussieu*) pertence

à família das Meliaceae, reduziu significativamente a incidência de fungos em sementes de Angico (*Anadenanthera colubrina* Vell.). Dentre os fungos observados o gênero *Penicillium* sp. obteve a menor incidência com 62% a menos de colônias. Em pesquisa com extrato de canola, Flores (2013) concluiu sua eficiência na inibição da germinação de conídios do fungo, no qual obteve 90% de eficácia do extrato no controle da podridão parda (*Monilinia fructicola*) na cultura do pessegueiro. Com resultados similares ao desse estudo, Silva et al. (2017) observaram que o extrato de pitangueira apresentou efeito estimulante na esporulação. Uma provável explicação para esses resultados é que algum componente desses extratos atua como estimulantes, assim como ocorreu perante o resultado de *Melaleuca alternifolia*.

Durante estudos realizados com produtos biológicos via aplicação foliar na cultura de morangueiros, Passo (2020) observou que os produtos à base *B. subtilis* e *B. amyloliquifaciens* se mostram favorável no controle de *B. cinerea*, no qual reduziram a severidade da doença, discordando dos resultados obtidos na pesquisa discutida, no qual o tratamento com *B. subtilis* igualou-se com a testemunha e o tratamento com *B. amyloliquifaciens* se expressou ineficaz. Em trabalho semelhante Minuzzo et al. (2020) concluíram que a cepa *B. subtilis* QST 713 na dosagem de 2,0 mL/L (1,6L/ha) a cada sete dias, não diferiu da testemunha. Podendo atribuir a ausência de controle no presente estudo à concentração utilizada e ressaltando a relevância de novos estudos para a determinação da dose correta para eficiência de controle do fitopatógeno em questão. O uso do tiofanato metílico se igualou a testemunha, assim como constataram Ampese et al., (2019) que a utilização do tiofanato metílico aplicado em bagas de uvas no controle de *B. cinerea*, não diferiu da testemunha. Demonstrando a baixa eficiência desse fungicida para o controle desse patógeno.

Em estudo com o fungo *Venturia inaequalis*, os princípios ativos que melhor apresentaram índice de controle em frutos de maçã, foram captana com 87% e fluxapiraxade + piraclostrobina com 93% de controle do fungo *Venturia inaequalis*, concordando com resultado alcançados sobre o controle captana. Neste mesmo trabalho difenoconazol demonstrou 0% de supressão e pirimetanil 3% de controle sobre o fungo *V. inaequalis* (ARAUJO et al., 2022). Entretanto esses resultados em macieira diferem em relação ao ingrediente ativo pirimetanil, que se expressou eficiente aplicado em frutos de goiaba serrana nesse estudo.

A classe das Dicarboximidás se destaca no controle de *Alternaria* spp. em algumas oleráceas. Apresenta ação de profundidade que ocorre quando o fungicida é aplicado numa das superfícies da folha e é translocado para o interior da folha, em alguns casos tem efeito curativo e antiesporulante, sendo assim age inibindo a esporulação de conídios e o crescimento micelial (TÖFOLI et al., 2015). Assim como foi observado no estudo captana se destacou no controle do patógeno, como o controle é da classe Dicarboximida se apresentou como antiesporulante.

Tabela 3. Concentração de conídios de *B. cinerea* em frutos de goiaba serrana.

Tratamentos	Concentração de conídios x10 ⁵ /µL
1 - Testemunha	1,31 b
2 - <i>Sophora flavescens</i>	0,55 c
3 - Pirimetanil	0,72 c
4 - Captana	0,14 c
5 - <i>Melaleuca alternifolia</i>	2,02 b
6 - <i>Bacillus subtilis</i> QST713	1,70 b
7 - Mancozebe	1,78 b
8 - Tiofanato Metílico	1,80 b
9 - <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MBI600	3,74 a
Média	1,78
CV (%)	38,97

¹Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Epagri, São Joaquim-SC. Fonte: Dos Autores, 2023.

Na figura 2 está apresentado os valores dos cálculos de área abaixo da curva de progresso da doença (AACPD), obtidos a partir do diâmetro dos frutos da goiaba serrana. É possível observar que não houve diferenças em relação aos controles por meio de *B. amyloliquefaciens*, captana, pirimetanil, *Sophora flavescens*, que obtiveram média inferiores em relação aos tratamentos tiofanato metílico, mancozebe, *B. subtilis*, *Melaleuca alternifolia* e a testemunha, os quais não diferiram entre si, mostrando que esses compostos não tiveram efeito sobre o patógeno.

O tratamento por meio do mancozebe não foi efetivo na AACPD e na redução da área lesionada, explica Souza (2017), que fazer o uso de mancozebe em conjunto com outras formulações traz melhor efeito no controle de fungo. Resultados que foram observados quando Souza (2017) realizou o tratamento de mancozebe em conjunto com azoxistrobina + ciproconazol e picoxistrobina + ciproconazol se destacaram em sua pesquisa, evidenciando redução média de 31,31 e 29,68 % na área abaixo da curva de progresso de lesões e urédias, respectivamente no controle de ferrugem asiática da soja. Os fungicidas multissítios devem ser aplicados em ações preventivas, devido sua ação letal sobre a germinação dos esporos. Mas fazer misturas de

fungicidas multissítios com sítio-específico amplia o fator de controle dos fungos e aumenta a qualidade do tratamento, favorecendo a morte de esporos que por ventura, não foram controlados com fungicidas sitio específico (BALARDIN, 2017).

Na pesquisa não foram verificadas diferenças entre a testemunha e o uso do tiofanato metílico, tais resultados podem ser atribuídos à resistência do isolado a esse ingrediente ativo. Schulman (2015) relatou resultados semelhantes em 44 isolados de *B. cinerea*, 36 isolados se demonstram resistente a tiofanato, ou seja, 82% da população, resultados como este comprovam que o uso intensivo de fungicidas químicos ao longo dos anos, é uma possível explicação dessa resistência ao princípio ativo. Ensaio realizado por Rissato (2021), observou que as cepas de *B. pumilus*, *B. subtilis* e *B. amyloliquefaciens* apresentaram controle significativo de doenças foliares de final de ciclo na soja, porém em comparação com fungicidas químicos o seu controle foi inferior, os isolados reduziram a AACPD, porém foram os tratamentos que registraram níveis mais próximos da testemunha. É possível observar uma semelhança com os resultados obtidos no estudo, no qual a cepa *B. amyloliquefaciens* se destacou em relação a testemunha e a cepa *B. subtilis*.

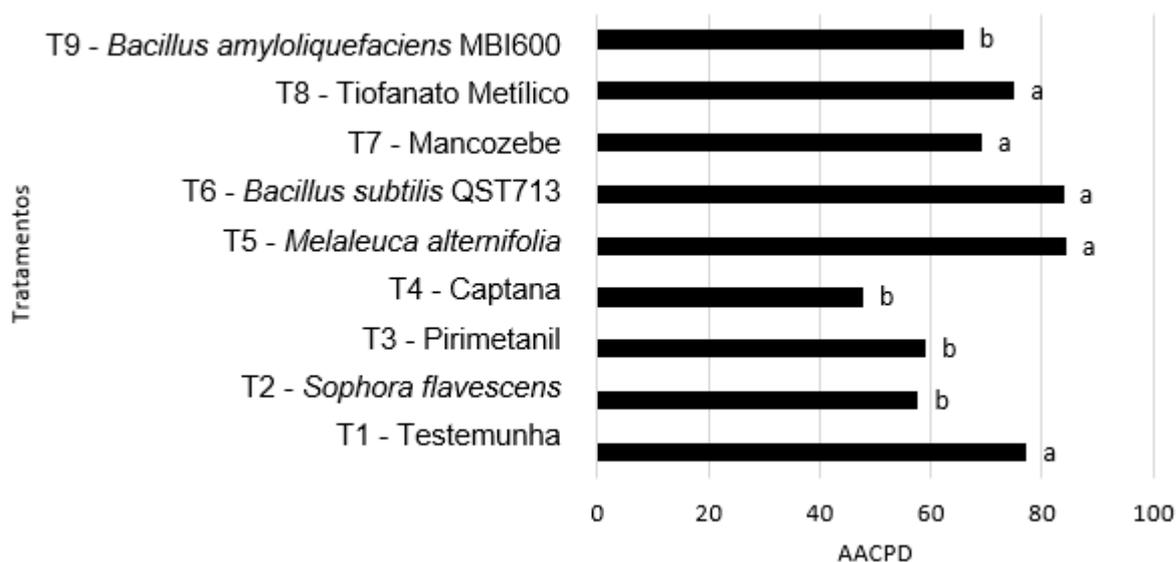


Figura 2. Área a baixo da curva de progresso da doença (AACPD) em frutos de goiaba serrana. Barras seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Epagri, São Joaquim-SC. Fonte: Dos Autores, 2023.

O extrato *Melaleuca alternifolia* não apresentou controle do fitopatógeno, uma vez que não diferiram da testemunha. Uma possível explicação para tal resultado é

explicada pelo resultado obtido por Moreira (2019), em que analisou o controle preventivo e curativo do extrato de alecrim-do-campo (*Baccharis dracunculifolia*) no controle de mofo-branco (*Sclerotinia sclerotiorum*), e verificou que o controle aplicado de forma preventiva reduziu a AACPD. Desse modo, é possível que esse extrato fosse eficaz caso houvesse uma aplicação de forma preventiva, ressaltando a importância de novos estudos associados ao tempo de aplicação em relação à inoculação e à forma preventiva ou curativa.

3.2. Ensaio *In vitro*

A análise de variância entre os tratamentos para concentração de conídios de *B. cinerea* e o índice de crescimento micelial realizados *in vitro* evidenciaram, diferenças a 5% de significância pelo teste de Scott-Knott (Tabela 02). No qual a testemunha proporcionou as maiores médias nas duas análises, já o tratamento por meio do extrato da planta *Melaleuca alternifolia* apresentou média de $2,35 \times 10^5/\mu\text{L}$ sob número de conídios e 16,47% no IVCMD diferindo da testemunha. Dentre os demais tratamentos captana, mancozebe, tiofanato metílico, *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens* e *Sophora flavescens* surtiram efeito de 100% no controle do fitopatógeno. O fungicida químico pirimetanil e o extrato de *Sophora flavescens* demonstram médias de esporos na solução de $0,65 \times 10^5/\mu\text{L}$ e $0,10 \times 10^5/\mu\text{L}$. Esses resultados concordam com os obtidos por Ampese et al. (2019), que durante a realização do experimento observaram que os tratamentos com mancozebe, iprodiona e procimidona inibiram inteiramente o crescimento micelial de *B. cinerea*.

O grupo químico das dicarboximidas, no qual captana, iprodiona e procimidona são representantes atuam diretamente na enzima NADH citocromo-c-redutase dos fungos, interferindo no processo respiratório e consequente peroxidação de lipídios. Ademais inibem a germinação de conídios, atuam no ápice das hifas evitando seu crescimento e o micélio tem seu crescimento interrompido, entre outras ações (RODRIGUES, 2006).

Os biocidas naturais são elaborados a partir de plantas, essas substâncias são utilizadas para combater vírus, fungos, bactérias e insetos. Os biocidas sintéticos, são os mais utilizados e altamente potentes, mas podem gerar dano aos rios, deixar resíduos em alimentos e eliminar agentes naturais, diante disso a busca por moléculas menos agressivas é fundamental (NUNES, 2023). Com isso Lorenzetti et al. (2011)

realizaram estudos sobre a bioatividade de óleos essenciais em isolados de *B. cinerea*, e evidenciaram em suas análises de crescimento micelial um controle de 80 a 59% de controle do patógeno com os óleos de canela, *Melaleuca*, menta, eucalipto, cravo e palmarosa. Resultados similares foram encontrados por Silva et al. (2017) ao utilizarem diferentes concentrações do extrato vegetal à base de araçá sobre o patógeno *Bipolaris oryzae* causador da mancha parda, nas concentrações de 5, 10, e 15% houve diminuição de 29,7, 58 e 85% no crescimento micelial no fungo. Em seus estudos Wuaden et al. (2018) verificaram a eficiência do óleo de manjerição no controle do crescimento micelial de *B. cinerea*, em que todas as doses do extrato demonstraram efeito significativo no controle da variável. Quando se aumenta a concentração do extrato de carqueja, maior é o controle da esporulação de *Bipolaris oryzae*, sendo que a concentração com 20%, reduziu em 40% a esporulação do patógeno (SILVA et al., 2017).

Abdelmoteleb et al. (2017) salientaram em seus estudos alto grau de inibição de crescimento micelial com uso da cepa de *B. subtilis* "ALICA" em relação aos fungos fitopatogênicos testados, dentre eles *Alternaria alternata*, *Macrophomina* sp., *Colletotrichum gloeosporioides*, *B. cinerea* e *Sclerotium rosfesii*, a cepa foi capaz de alterar a morfologia micelial do patógeno, causando fraturas, inchaços, distorções e morfologia anormal além de não ocorrer a criação de esporos.

Tabela 4. Concentração de conídios de *B. cinerea* e índice de velocidade de crescimento micelial (IVCM), ambos em meio de cultura.

Tratamentos	Concentração de conídios x10 ⁵ /µL	Índice de velocidade crescimento micelial (IVCM)
1 - Testemunha	23,10 a	25,03 a
2 - <i>Sophora flavescens</i>	0,65 c	8,23 c
3 - Pirimetanil	0,10 c	0 d
4 - Captana	0 c	0 d
5 - <i>Melaleuca alternifolia</i>	2,35 b	16,47 b
6 - <i>Bacillus subtilis</i> QST713	0 c	0 d
7 - Mancozebe	0 c	0 d
8 - Tiofanato Metílico	0 c	0 d
9 - <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> MBI600	0 c	0 d
Média	2,91	5,25
CV (%)	67,44	20,50

¹Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ($p < 0,05$). Epagri, São Joaquim-SC. Fonte: Dos Autores, 2023.

Em estudos sobre a microbiolização de sementes de alface com diferentes cepas de *Bacillus* spp. no controle de fungos fitopatogênicos Costa et al. (2021),

constatarem em seus resultados que os isolados MGSS B273 (*B. methylotrophicus*) e MGSS B274 (*B. amyloliquefaciens*) controlaram 100% dos patógenos. Nesse contexto explica Abdelmoteleb et al. (2017) que o gênero *Bacillus* possui algumas estratégias no controle de patógenos, entre elas a produção de antibióticos extracelulares e produção de enzimas micolíticas como quitinase, protease e β -1,3-glucanase, enzimas responsáveis pela degradação de polissacarídeos presente na parede celular de fitopatógenos.

A linhagem das bactérias *Bacillus* spp. agem de forma antagonistas e utilizam diferentes métodos para frear o crescimento de fungos, são elas: produção de antibióticos, resistência de planta, competição, predação e por transmissão de genes não virulentos para linhagens patogênicas (FEPAGRO, 2021).

4. CONCLUSÃO

O fungicida químico captana e pirimetanil e o extrato de *Sophora flavescens* são eficientes na redução da área a baixo da curva de progresso da doença e na concentração de conídios de *B. cinerea*.

Captana, *B. subtilis*, mancozebe, tiofanato metílico, *B. amyloliquefaciens* são capazes de suprimir completamente a esporulação de *B. cinerea in vitro*.

Pirimetanil, captana, *B. subtilis*, mancozebe, tiofanato metílico, *B. amyloliquefaciens* são capazes de cessar de forma integral o crescimento de colônias de *B. cinerea* em meio de cultura.

Os princípios ativos indicados para frutíferas de clima temperado que foram utilizados e que comprovaram sua eficiência, podem usados no controle de *B. cinerea* em frutos da goiabeira serrana. Mas são necessários mais estudos para desenvolver melhor as técnicas de manejo fitossanitário.

5. AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir concluir a graduação em Engenharia Agrônômica, por não me deixar desistir mesmo com os desafios. Agradeço também a vida dos meus pais e familiares, que me deram todo apoio durante está trajetória, por todo amor, respeito, carinho, compreensão e atenção dados a mim durante este período.

Ao meu orientador James Matheus Ossacz pela orientação e atenção constante, pelo incentivo e amizade.

Ao coorientador Felipe Augusto Moretti Ferreira Pinto, aos técnicos de laboratório Iran Souza Oliveira e Arthur Oliveira Souza pelo suporte técnico e a toda a equipe da EPAGRI (Estação Experimental de São Joaquim-SC), por todo apoio e ensinamento doados a mim durante meu estágio.

A Faculdade do Centro do Paraná – UCP e a todos os professores que tive a oportunidade de conviver. A todos os colegas e amigos que fiz durante esses cinco anos de estudos, aos quais foram fundamentais para o sucesso.

6. REFERÊNCIAS

ABDELMOTELEB, A.; TRONCOSO-ROJAS, R.; GONZALEZ-SOTO, T.; GONZÁLEZ-MENDOZA, D. Antifungal activity of autochthonous *Bacillus subtilis* isolated from *Prosopis juliflora* against phytopathogenic fungi. **Mycobiology**. v.45, n.1, 2017.

AMARANTE, C. V. T.; SANTOS, K. L. Goiabeira serrana (*Acca sellowiana*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.1, 2011.

AMPESE, M.; ALMANÇA, M. A. K. Efeito de fungicidas no controle de *Botrytis cinerea* in vitro e em bagas de uva com fermento. **Viticultura**, v.86, n.11, 2019.

ARAÚJO, L.; MEDEIROS H. A.; PASA M. S.; SILVA, F. N. Doenças da macieira e da parreira. **Informe Agropecuário**, v.37, n.291, 2016.

ARAÚJO, L.; PINTO, F. A. M. F.; LACONSKI, J. M. O.; NOGUEIRA, P. H. S. **Fungicidas sítio-específicos em mistura com fertilizantes foliares a base de ácido peracético para o controle da sarna da macieira no ciclo 2020/2021**. In Encontro Sul-Brasileiro de Fitossanidade III Workshop Estadual sobre Manejo Fitossanitário, Chapecó, SC, 2022.

BALARDIN, R. S.; MADALOSSO, M. G.; STEFANELLO, M. T.; MARQUES, L. N.; DEBORTOLI, M. P. Mancozebe muito além de um fungicida. **Bookman Editora**, 2017.

CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. Monitoring epidemics. In: Introduction to plant disease epidemiology. **John Wiley & Sons**, Cap. 6, 1990.

CARDOSO, J. H. Cultivo e conservação da feijoa: Uma homenagem a um agricultor guardião. **Embrapa, (Doc. 288)**, 2009.

CANTARELI, F. K. A.; ZANATTA, M. M. Goiaba serrana: A superfruta do futuro. **Campo e negócios online**, 2020. Acesso dia 19 de setembro de 2023. Disponível em: <https://revistacampoenegocios.com.br/goiaba-serrana-a-superfruta-do-futuro/>

CIOTTA, M. N.; ARIOLI, C. J.; PINTO, F. A. M. F.; SANTOS, K.; ARAUJO, L.; PASA, M. S. (Orgs.) A cultura da goiabeira serrana. **Epagri**, 2018.

COSTA, N. D. J. F.; SANTOS, M. S. B.; RODRIGUES, A. A. C.; CANDIDO, E. K.; SILVA, G. S. Microbiolização de sementes de alface com *Bacillus spp.* para controle de fungos fitopatogênicos. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v.18, n.1, 2021.

CUZZI, C. **Extratos de canola no controle de *Botrytis cinerea in vitro* e do mofo cinzento em pós-colheita de morangos**. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, 2013.

DELGADO, S.; GARCÍA, M.; ZOPPOLO, R.; CALVETE, A.; PUPPO, M.; MERCEDES, R. Guía para la identificación de insectos y hongos asociados al Guayabo del País em la población silvestre de la Quebrada de los Cuervos (Treinta y Tres). **Montevideu [URUGUAI]: ANII**, 2013.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, n.6, 2011.

FLORES, Mariana Faber. **Extratos vegetais no controle de podridão parda (*Monilinia fructicola*) em pêssego**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná de Pato Branco, 2013.

GOMES, M. D. F. **Atividade inseticida de fungos entomopatogênicos e do alcaloide matrine em larvas de *Musca domestica Linnaeus*, (Diptera: Muscidae)**. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical e Saúde Pública) - Universidade Federal de Goiás, 2017.

KULIKA, L. H. Avaliação do extrato aquoso de folhas e frutos de *Acca sellowiana* (Berg.) Burret no desenvolvimento de fungos de solo. **Repositório Institucional Universidade Federal de Santa Catarina**, 2018.

Laboratório de fitopatologia. **Fundação Estadual de pesquisa agropecuária (FEPAGRO)**, 2021. Acesso dia 19 de setembro de 2023. Disponível em: <https://www.agricultura.rs.gov.br/upload/arquivos/202105/11153518-1443527551-folder-lab-fito.pdf>

LORENZETTI, E. R.; MONTEIRO, F. P.; SOUZA, P. E.; SOUZA, R. J.; SCALICE, H. K.; DIOGO JR, R.; PIRES, M. S. O. Bioatividade de óleos essenciais no controle de

Botrytis cinerea isolado de morangueiro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.13, n.1, 2011.

MINUZZO, P.; SANHUEZA, R. M. V.; SPADOA, A. N.; BARTNICKI, V. A. Eficácia do controle biológico de mofo cinzento em morangos produzidos em cultivo protegido. **Revista Eletrônica Científica da UERGS**, v.6, n.2, 2020.

MOLINA, A. M. R. Desenvolvimento das estruturas florais da goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) (syn. *Feijoa sellowiana*) em condições de clima tropical e subtropical. **Repositório Institucional Universidade Federal de Santa Catarina**, 2021.

MOREIRA, R. B. **Avaliação do efeito curativo e preventivo do extrato de *Baccharis dracunculifolia* no controle de *Sclerotinia sclerotiorum***. Trabalho de conclusão de graduação em agronomia – Universidade Federal da Fronteira Sul, 2019.

MORETTO, S. P.; NODARI, E. S.; NODARI, R. O. A disseminação da feijoa (*Acca sellowiana*). **Proceedings of the 15th Encontro Estadual de História**, 2014.

NUNES, F. Laboratório da UFF desenvolve inseticida ecológico que combate pragas sem agredir a natureza. **Universidade Federal de Fluminense**, 2023.

OLIVEIRA, J. A. Efeito do tratamento fungicida em sementes no controle de tombamento de plântulas de pepino (*Cucumis sativus* L.) e pimentão (*Capsicum annum* L.). **Lavras MG. Universidade Federal de Lavras**, 1991.

PASSOS, L. N. **Eficiência de fungicidas químicos alternados com *Bacillus subtilis* no controle do mofo cinzento no morango**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, 2020.

Relação de Códigos FRAC®* 2022: Agentes de controle fúngico classificados por padrão de resistência cruzada e modo de ação (incluindo codificação por Grupos FRAC em rótulos de produto). **Comitê de Ação a Resistência a Fungicidas (FRAC)**, 2022.

RISSATO, R. B. ***Bacillus spp.* no controle de doenças foliares de final de ciclo na cultura da soja**. Trabalho de Conclusão de Curso. Agronomia, 2021.

RODRIGUES, M. A. T. **Classificação de fungicidas de acordo com o mecanismo de ação proposto pelo FRAC**. Dissertação (mestrado em agronomia) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas, 2006.

SANTOS, K. D.; Ducroquet, J. P. H. J.; Nava, G., AMARANTE, C. D.; SOUZA, S. D.; Peroni, N.; Nodari, R. O. Orientações para o cultivo da goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*). **Epagri, (Boletim técnico 153)**, 2011.

SCHULMAN, P. **Sensibilidade de isolados de *Botrytis cinerea*, obtidos de maçãs, a tiofanato metílico, piraclostrobina e pirimetanil**. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia) – Universidade Federal de Viçosa, 2015.

SILVA, G. H.; HENRIQUES, Í.; SOUZA, P.; CAMPELO, G. Influência do extrato de nim em fungos incidentes sobre sementes de angico no município de Patos, Paraíba. **Engenharia Ambiental: Pesquisa e Tecnologia**, v.8, n.3, 2011.

SILVA, W. R.; MOREIRA-NUÑEZ, V.; GAVIRIA-HERNANDÉZ, V.; GONÇALVES, V. P.; AZAMBUJA, R. H. M.; & DE FARIAS, C. R. J. Fungitoxicidade de extratos vegetais e óleo essencial de alecrim no crescimento micelial e esporulação de *Bipolaris oryzae*. **Magistra**, v.29, n.3/4, 2017.

SOUZA, P. H. N. **Associação de mancozebe com formulações comerciais mistas de fungicidas no controle da ferrugem asiática da soja**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Grande Dourados, 2017.

SPLABOR. O que é uma Câmara de Neubauer e como ela funciona? **Splabor equipamentos para laboratório**. 2021. Acesso em 18 de setembro de 2023. Disponível em: <https://www.splabor.com.br/blog/30-produtos-para-laboratorio-de-quimica/o-que-e-uma-camara-de-neubauer-e-como-ela-funciona/>

TÖFOLI, J. G.; DOMINGUES, R. J.; & FERRARI, J. T. *Alternaria* spp. em oleráceas: sintomas, etiologia, manejo e fungicidas. **O Biológico**, v.77, n.1, 2015.

TÖFOLI, J. G.; FERRARI, J. T.; DOMINGUES, R. J.; & NOGUEIRA, E. M. C. *Botrytis* sp. em espécies hortícolas: hospedeiros, sintomas e manejo. **Biológico, São Paulo**, v.73, n.1, 2011.

WUADEN, C. R., GAIO, I.; SPERHACKE, T. P.; BARRO, J. P.; & MILANESI, P. M. Atividade antifúngica do extrato alcoólico de própolis e do óleo essencial de manjerição sobre *Botrytis cinerea*. In: **Colloquium Agrariae**. v.14, n.2, 2018.