

Artigo Científico

Suspensão de *Agaricus brasiliensis* na indução de fitoalexinas e no controle do míldio da videira

Resumo

O presente estudo teve como objetivo, verificar o efeito elicitor na indução de fitoalexinas e controle da severidade do míldio da videira (*Plasmopara viticola*) em condições de campo da suspensão miceliada aquosa (SMA) de *Agaricus brasiliensis*. Para a indução de fitoalexina em feijão, soja, sorgo e severidade do míldio foram utilizados os tratamentos contendo a SMA de *A. brasiliensis* lavada e não lavada, assim como também com e sem associação com o óleo vegetal (OV), como tratamento testemunha com água e os padrões com acibenzolar-S-metil (ASM 0,005%) e calda bordalesa (1:1:1)⁻. Em outro experimento, também para a determinação da indução de fitoalexinas em soja e sorgo, foram utilizadas as doses de 0, 1, 5, 10, 15 e 20% da SMA de *A. brasiliensis*. Verificou-se que a SMA de *A. brasiliensis* a 10% induziu em 1000% e 56% a fitoalexina em feijão e sorgo, respectivamente. Para soja observou-se aumento de 400% com 5% da SMA lavado de *A. brasiliensis*. Já as doses dessa suspensão pode-se ressaltar indução de 460% e 710% quando se utilizou 20% da SMA do cogumelo. Em condições de campo não foram relatados diferenças estatísticas entre os tratamentos aplicados nas videiras. Dessa forma, pode-se dizer que a SMA de *A. brasiliensis*, apresenta compostos com capacidade para desencadear comportamento elicitor para respostas de indução de resistência em plantas, porém não foram observados efeito direto sobre o patógeno avaliado.

Palavras-chave: cogumelo, *Vitis vinifera*, *Plasmopara viticola*, metabolismo secundário.

Suspension *Agaricus brasiliensis* in the induction of phytoalexins and in the control of the grapevine downy mildew

Abstract

The objective of this study was to verify the elicitor effect on phytoalexin induction and control of grapevine mildew (*Plasmopara viticola*) under field conditions of the micelial aqueous suspension (MAS) of *Agaricus brasiliensis*. For the induction of phytoalexin in beans, soybean, sorghum and severity of mildew, treatments containing washed and unwashed *A. brasiliensis* MAS, as well as with and without association with vegetable oil (VO), were used as control treatment with water and standards with acibenzolar-S-methyl (ASM 0,005%) and bordeaux syrup (1: 1: 1). In another experiment, also for the determination of phytoalexin induction in soybean and sorghum, the doses of 0, 1, 5, 10, 15 and 20% of MAS of *A. brasiliensis* were used. The 10% *A. brasiliensis* MAS was found to induce 1000% and 56% phytoalexin in beans and sorghum, respectively. For soybean, a 400% increase was observed with 5% of the washed MAS of *A. brasiliensis*. The doses of this suspension can be emphasized induction of 460% and 710% when using 20% of the MAS of the mushroom. In field conditions no statistical differences were reported between the treatments applied on the vines. Thus, it can be said that the MAS of *A. brasiliensis* presents compounds capable of eliciting elicitor behavior for resistance induction responses in plants, but no direct effect was observed on the pathogen evaluated.

Keywords: mushroom, *Vitis vinifera*, *Plasmopara viticola*, secondary metabolism.

Received at: 14/08/2018

Accepted for publication at: 05/01/2019

1,2,3 - Bióloga, Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), Rua Simeão Varela de Sá, 03, Vila Carli, CEP: 85040-080, Guarapuava-PR. E-mail: carlagarciaagro@gmail.com, herta@unicentro.br, alineratuchne@yahoo.com.br

4 - Eng. Agrônoma, Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO), carolprovin@hotmail.com.

Suspensión de *Agaricus brasiliensis* en la inducción de fitoalexina y el control del mildiu de la vid

Resumen

El objetivo del presente estudio fue verificar el efecto elicitor en la inducción de fitoalexina y control de la severidad del mildiu de la vid (*Plasmopara viticola*) en condiciones de campo de suspensión micelial acuosa (SMA) de *Agaricus brasiliensis*. Para inducir la fitoalexina en frijoles, soja, sorgo y severidade del mildiu, se utilizaron tratamientos que contienen a SMA de *A. brasiliensis* lavada y sin lavar, así como con y sin asociación con aceite vegetal (OV), como tratamiento de control con agua y patrones con acibenzolar-S-metilo (ASM 0.005%) y Mezcla de Burdeos (1: 1: 1). En otro experimento, también para la determinación de la inducción de fitoalexinas en soja y sorgo, se utilizaró las dosis de 0, 1, 5, 10, 15 y 20% da SMA de *A. brasiliensis*. Se verifico que el SMA de *A. brasiliensis* a 10% SMA indujo em 1000% y 56% la fitoalexina en frijoles y sorgo, respectivamente. Para la soja, se observó un aumento del 400% con 5% de SMA lavada de *A. brasiliensis*. Las dosis de esta suspensión pueden inducir una inducción de 460% y 710% cuando se usa 20% de la SMA de cogumelo. En condiciones de campo no se verificó diferencias estadísticas entre los tratamientos aplicados a las vides. Por lo tanto, se puede decir que el SMA de *A. brasiliensis* presenta compuestos capaces de desencadenar un comportamiento inductor para respuestas de inducción de resistencia en plantas, pero no se observó ningún efecto directo sobre el patógeno evaluado.

Palabras clave: cogumelos, *Vitis vinifera*, *Plasmopara viticola*, metabolismo secundario.

Introdução

O setor vitícola brasileiro destaca-se por sua contribuição econômica e social do país, porém a qualidade fitossanitária é de suma importância para melhorar a qualidade e a produtividade da uva (Marini et al. 2012). Dentre os patógenos que podem afetar de forma negativa esses aspectos, encontram-se o míldio da videira. Essa doença tem como agente causal o oomiceto *Plasmopara viticola*, que ataca todos os órgãos da planta, acarretando em redução na área fotossintética e conseqüentemente baixa produtividade e qualidade dos produtos finais (Gessler et al., 2011).

Atualmente as práticas agrícolas no Brasil são caracterizadas pela alta dependência de agrotóxicos, que se desfunde extensivamente nos últimos três anos, sendo o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, e encarregado por 1/5 do consumo mundial (ALENCAR et al., 2014). Dentre esses produtos químicos corriqueiramente utilizados para o controle dessas doenças, na cultura da uva podem corresponder até 30% do custo da produção (MAIA et al. 2014).

Como forma de atender essas expectativas agroecológicas, estão os compostos bióticos obtidos através de cogumelos que podem apresentar comportamento elicitor sobre a planta e/ou controle direto sobre o patógeno. Essa ação elicitora, pode atuar na indução de fitoalexinas, que são compostos antimicrobianos de baixa massa molecular,

sintetizados como metabólitos secundários das plantas, em respostas a ação de agentes externos. Já o efeito fungitóxico pode ser adquirido principalmente por extratos obtidos de cogumelos, que através do seu desenvolvimento sintetizam substâncias que podem apresentar comportamentos bacteriostáticos, nematostáticos ou fungistáticos (Arruda et al. 2012, Schwan-Estrada et al. 2012; Moura et al. 2014).

Dentre esses cogumelos usados como indutores de resistência apresenta o *Agaricus brasiliensis*, que apresenta compostos bioativos que podem atuar como antibióticos, substâncias bacteriostáticas, fungistáticas e nematostáticas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2012).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo verificar o efeito da suspensão miceliada aquosa (SMA) do cogumelo *Agaricus brasiliensis* na indução de fitoalexinas faseolina em hipocótilos de feijão, gliceolina em mesocótilo de sorgo e deoxiantocianidina em cotilédones de soja. Assim como também, verificar a ação fungitóxica sobre o míldio da videira, em condições de campo.

Materiais e métodos

Local dos experimentos

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de fitopatologia e no pomar da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO) campus CEDETEG.

Tratamentos utilizados nos ensaios

Para determinação do efeito da suspensão miceliada aquosa (SMA) de *A. brasiliensis* na indução de fitoalexinas foram adotados duas formas distintas de uso da SMA. Para avaliar a ação dessa suspensão na atividade de faseolina em feijão, gliceolina em soja e dioxiantocianidina em sorgo, primeiramente utilizou-se o óleo vegetal emulsionável (Natur¹ óleo[®], Empresa Stoller do Brasil LTDA, contendo 93% de óleo vegetal e 7% de ingredientes inertes) (OV), como adjuvante sobre a suspensão do cogumelo, que poderia ou não ser lavado o micélio, como forma de retirar os resíduos de meio de cultivo do *A. brasiliensis*. Dessa forma, os tratamentos utilizados foram: testemunha (água), 5% da SMA acrescidos com 0,05 $\mu\text{L L}^{-1}$ de OV (5% SMA+OV), 10% da SMA lavado acrescidos com 0,05 $\mu\text{L L}^{-1}$ de OV (10% SMA L+OV), 10% da SMA acrescidos com 0,05 $\mu\text{L L}^{-1}$ de OV (10% de SMA +OV), 5% da SMA lavada (5% SMA L), 10% da SMA lavada (10% SMA L), 5% da SMA (5% SMA) e 10% da SMA (10% SMA). Também foram utilizados como tratamentos padrões o OV a 0,05% $\mu\text{L L}^{-1}$ e acibenzolar-S-metil (ASM) a 0,005%.

Como segunda forma de uso da SMA de *A. brasiliensis* na indução de fitoalexinas de soja (gliceolina) foram utilizadas as doses de 1%, 5%, 10%, 15% e 20% dessa SMA e como tratamento testemunha com água e padrão com acibenzolar-S-metil (ASM) a 0,005%. Para a determinação da indução de fitoalexina em sorgo (dioxiantocianidina), foram utilizados os mesmos tratamentos, exceto a dose de 20% da SMA de *A. brasiliensis*.

Para análise do efeito fungitóxico da SMA de *A. brasiliensis*, sobre o míldio da videira (*P. vitícola*) em condições de campo, foram utilizados como tratamentos: testemunha (água), SMA de *A. brasiliensis* à 100%, assim como também SMA de *A. brasiliensis* à 100% acrescida de 0,05% de OV e como tratamentos padrões a calda bordalesa 0.6:0.3:100 (cal: sulfato de cobre: água).

Determinação da fitoalexina faseolina em hipocótilos de feijão, glicina em cotilédones de soja e dioxiantocianidina em mesocótilo de sorgo

Para determinação da fitoalexina faseolina em hipocótilos de feijão, seguiu-se e adaptou-se a metodologia de DIXON et al. (1983). Sementes de feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Uiarupu foram desinfestadas em hipoclorito de sódio a 1%, lavadas em água estéril, semeadas em bandejas de isopor, contendo areia

esterilizada, e mantidas em temperatura ambiente, no escuro, por sete dias, monitorando-se diariamente a umidade. No oitavo dia, cortou-se 5 cm de cada hipocótilo, que posteriormente foram lavados e secados a temperatura ambiente.

Em placas de Petri, contendo papel filtro umedecido, foi adicionado quatro hipocótilos de feijão e sobre esses seguimentos aplicados os tratamentos.

Posteriormente as placas foram acondicionadas em câmara de crescimento (BOD) a $25\pm 1^\circ\text{C}$ no escuro. Decorridas 48h, os hipocótilos foram transferidos para tubos de ensaio com 10 mL de etanol e mantidos a 4°C por 48h. Para a extração da fitoalexina, induzida pelos tratamentos, os tubos contendo os tratamentos com os segmentos foram agitados à 200 g por 1h, na sequência, foi determinada a produção de fitoalexinas em espectrofotômetro com comprimento de onda de 280 nm.

Quando se utilizou a SMA de *A. brasiliensis* acrescida com OV o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez tratamentos com quatro repetições. Caso contrário, adotou-se o mesmo delineamento, porém com cinco tratamentos e cinco repetições.

Para soja (*Glycine max* L.) (Vigo et al. 2001), as sementes de soja foram desinfestadas, colocadas em areia esterilizada (autoclavada) e mantidas em casa de vegetação para germinação. Após o 10º dia da semeadura, os cotilédones foram separados das plântulas, lavados em água destiladas, enxugados e cortados em secção aproximada de 1 mm de espessura e 6 mm de diâmetro a partir da superfície inferior. Quatro cotilédones foram colocados em placa de Petri contendo papel de filtro umedecido com água destilada estéril. Foi aplicada sobre cada cotilédone uma alíquota de 40 μL de cada tratamento. As placas de Petri foram mantidas à 25°C no escuro. Após 20h, os cotilédones foram transferidos para tubos de ensaio contendo 15 mL de água destilada esterilizada e deixados em agitação por 1h para extração da fitoalexina formada. A absorbância foi determinada a 285 nm (Ayers et al. 1976).

Quando se utilizou a SMA de *A. brasiliensis* acrescida com OV o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez tratamentos com quatro repetições. Caso contrário, adotou-se o mesmo delineamento, porém com cinco tratamentos e cinco repetições.

Em sorgo (*Sorghum bicolor* L.), as sementes foram mergulhadas em hipoclorito de sódio a 1% e enxaguadas em água estéril, em seguida embebidas em água autoclavada por 6h. Decorrido esse período,

foram distribuídas em papel filtro umedecido e incubadas em camada de crescimento (BOD) a 25±1°C por quatro dias, para a germinação das sementes. Diariamente foi monitorada a umidade (Nicholson et al. 1987).

Posteriormente as plântulas ficaram expostas a luz constante durante 4h e em seguida foi incisado os mesocótilos 0,5 cm acima do nó escutelar e acondicionado em tubos de ensaio (3 mesocótilos/tubo) com os tratamentos.

Os tubos foram mantidos em câmara úmida, à 25±1°C sob luz fluorescente por 60h (Wulff, 1998, 1999). Após esse tempo, os segmentos foram retirados dos tratamentos, secados e descartados os seus 5 mm basais. A porção superior foi pesada, fracionada em pequenos pedaços e colocadas em tubos tipo eppendorf, contendo 1,4 mL de metanol 80% acidificado e mantidos a 4°C por 96h. Por fim, foi realizado a leitura em espectrofotômetro com absorvância de 480 nm, obtendo dessa forma a produção de fitoalexina gliceolina nos mesocótilos de sorgo (Nicholson et al. 1987).

Quando se utilizou a SMA de *A. brasiliensis* acrescida com OV o delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez tratamentos com quatro repetições. Caso contrário, adotou-se o mesmo delineamento, porém com seis tratamentos e cinco repetições.

Determinação do efeito fungitóxico da sma de *Agaricus brasiliensis* sobre o míldio (*Plasmopara viticola*) da videira em condições de campo

Foram utilizadas videiras 'Isabel Precoce', enxertadas sobre 'Paulsen 1103 (*V. rotundifolia* x *V. berlandieri*), conduzidas em espaldeiras, com espaçamento de 1,2 x 2,5m em sistema orgânico, que já se encontram plantadas na área experimental da Universidade, na cidade de Guarapuava-PR-Brasil com 25°21' de latitude sul, 51°30' de longitude oeste e a 1100 m de altitude, em solo classificado como latossolo bruno distroférico de textura argilosa e clima dito CBF subtropical mesotérmico úmido.

Em condições de campo não foi realizada a inoculação do patógeno, pois devido às condições favoráveis, ocorreu manifestação natural da doença. Sendo assim, como medida preventiva foram realizadas pulverizações semanais dos tratamentos com pulverizador verizador com dois bicos ajustados em garrafas pet desde o início da brotação das videiras. Nos primeiros sintomas do míldio, começaram-se as avaliações de severidade (% de área

lesionada), segundo a escala proposta por Azevedo (1997). Esses dados foram transformados em área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL; MADDEN, 1990). As avaliações foram realizadas semanalmente, totalizando três avaliações em cinco folhas pré marcadas em cada planta.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com seis tratamentos e cinco repetições, sendo cada uma constituída por uma planta.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos á análise de variância e quando significativo (no caso dos tratamentos com doses da SMA de *Agaricus brasiliensis*) realizou-se regressão polinomial ao nível de 5% de probabilidade de confiança, através do programa estatístico SISVAR (Ferreira 2011).

Resultados e discussão

Determinação da fitoalexina faseolina em hipocótilos de feijão, glicina em cotilédones de soja e dioxiantocianidina em mesocótilo de sorgo

Com relação a indução de fitoalexinas faseolina em feijão, observou-se que o tratamento com 10% da SMA de *A. brasiliensis* e o ASM, induziram acima de 1000% (Figura 1A). Para gliceolina em soja, 5% da SMA do cogumelo *A. brasiliensis* lavado (5% SMA L), essa indução foi de 400% e do ASM de 133% (Figura 1B); já para dioxiantocianidina em sorgo, o tratamento com 10% da SMA foi igual ao ASM, aumentando em 56% (Figura 1C). Sendo todos esses resultados em relação ao tratamento testemunha.

Para os tratamentos com doses da SMA de *A. brasiliensis* na indução da fitoalexina gliceolina em cotilédones de soja, houve efeito linear em função das doses da SMA de *A. brasiliensis*. Podendo-se ressaltar que a dose de 20% da suspensão, induziu em 460% a fitoalexina, em relação ao tratamento testemunha (Figura 2 A).

As doses de 1%, 5%, 10% e 15% da SMA de *A. brasiliensis*, causaram também efeito linear positivo na indução da fitoalexina dioxiantocianidina em mesocótilos de sorgo, obteve-se como resultados o estímulo de 365%, 765.5%, 710% e 1757.5%, respectivamente, e o ASM em 430%, todos em relação ao tratamento testemunha (Figura 2 B).

Esses resultados obtidos estão possivelmente relacionados com a composição da parede celular de cogumelos, que apresentam β -glucanas com ligações glicosídicas do tipo β -1.3; β -1.4 e β -1.6 que podem ser responsáveis pelas atividades biológicas

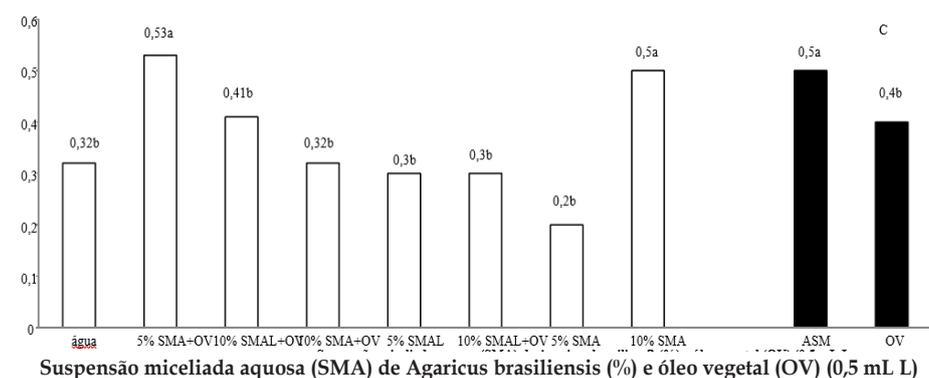
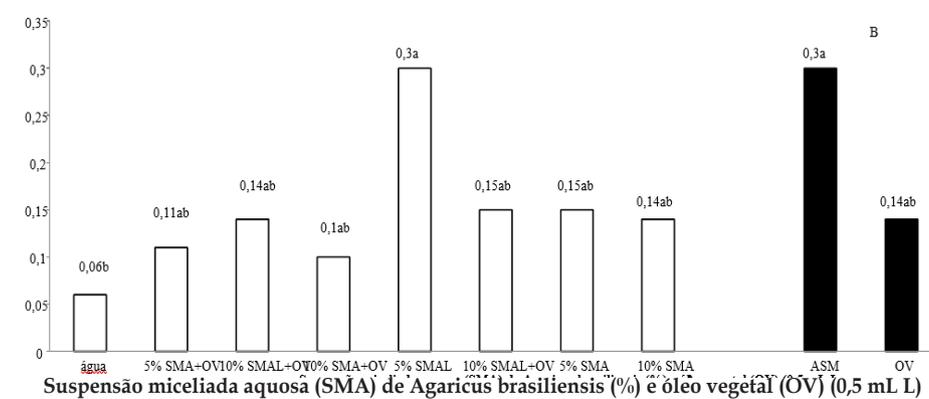
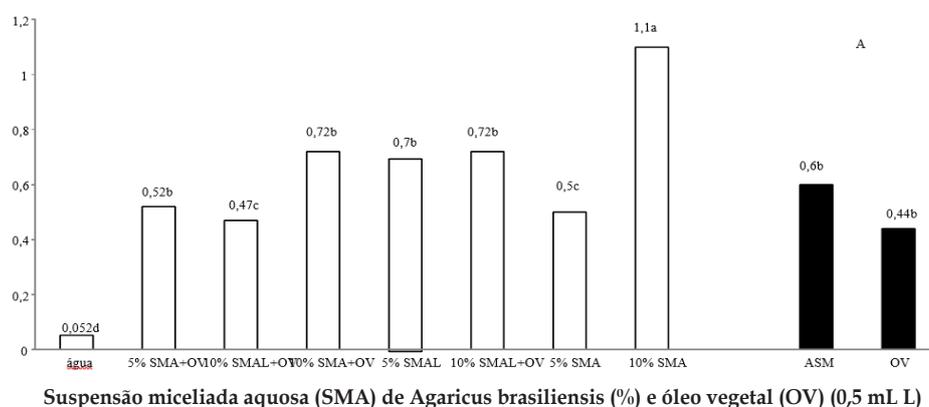


Figura 1. Indução de fitoalexina faseolina em hipocótilo de feijão (A), gliceolina em cotilédones de soja (B), diosxiantocianidina em mesocótilos de sorgo, tratados com: testemunha (água), 5% da suspensão miceliada aquosa (SMA) acrescidos com 0.05 µL L⁻¹ de OV (5% SMA+OV), 10% da SMA lavado acrescidos com 0.05 µL L⁻¹ de OV (10% SMA L+OV), 10% da SMA acrescidos com 0.05 µL L⁻¹ de OV (10% de SMA +OV), 5% da SMA lavada (5% SMA L), 10% da SMA lavada (10% SMA L), 5% da SMA (5% SMA) e 10% da SMA (10% SMA). Também foram utilizados como tratamentos padrões o OV a 0.05% µL L⁻¹ e acibenzolar-S-metil (ASM) a 0.005%.

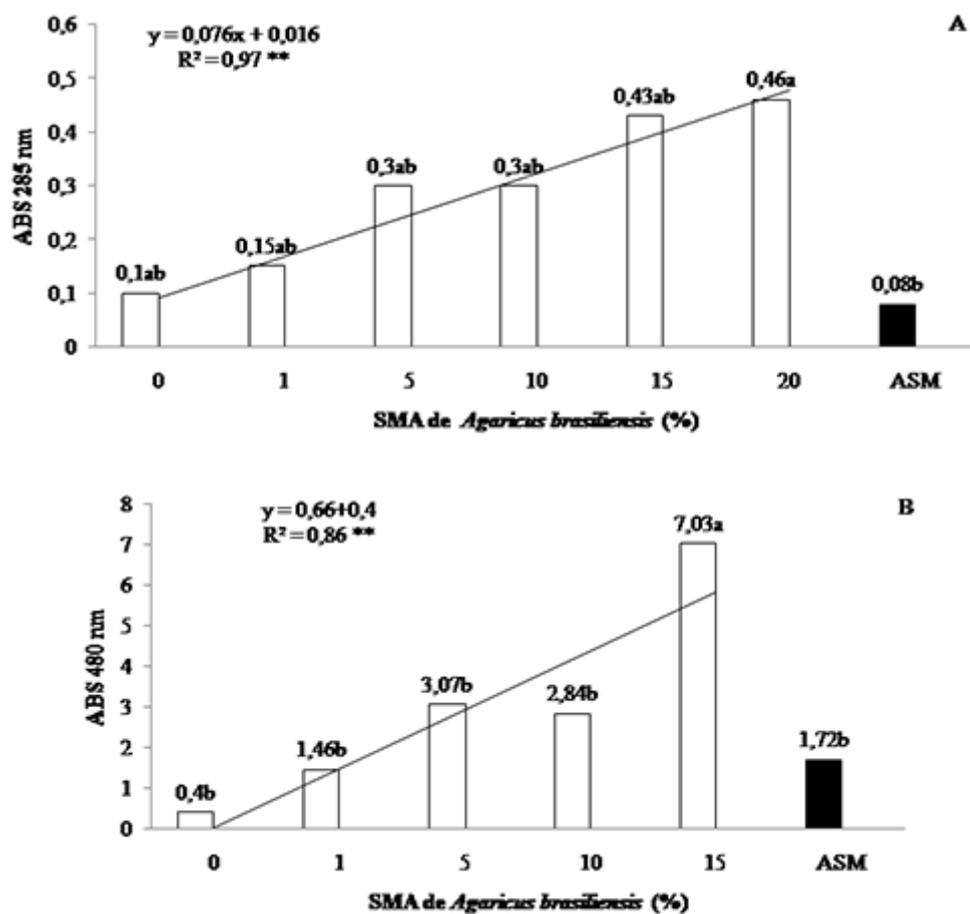


Figura 2. Indução de gliceolina em cotilédones de soja (A) tratados com as doses de 1%, 5%, 10%, 15% e 20% da suspensão micelida aquosa (SMA) de *A. brasiliensis*, assim como, tratamento padrão acibenzolar-S-metil (ASM) e testemunha (somente água). Os mesmos tratamentos, exceto a dose 20%, para a indução da fitoalexina dioxiantocianidina em mesocótilo de sorgo (B).

desencadeadas, principalmente, pelo comportamento elicitor na indução de fitoalexinas (PARK et al., 2003; CAMELINI et al., 2005; BRAGA, 2008).

SILVA et al., (2008), estudos em plantas também mostraram a atividade das peroxidases aumentada após aplicação de extrato de *A. brasiliensis*, reduzindo a ocorrência de doenças. Esse fato, é afirmado por Arruda et al. (2012), que constataram a capacidade de *A. brasiliensis* em induzir acúmulo de fitoalexina em soja, verificando que a concentração de 10% obteve o melhor resultado e que de acordo com o aumento da concentração do extrato de *A. brasiliensis* ocorreu maior indução. Segundo o autor, esse cogumelo assim como *L. eddodes* e *P. sanguineus*, podem auxiliar na

ativação de mecanismos latentes da planta.

Com relação ao uso do óleo vegetal (OV) na indução de resistência, são raros os trabalhos na literatura, porém Leite et al. (2014), ressaltam que esses produtos são constituídos por compostos químicos que podem atuar como elicitores. Os autores destacam que as doses de 0,2; 0,4 e 0,8 mL L⁻¹ de OV reduzem a atividade da enzima catalase em folhas de videira. Fedrigo et al. (2014), também afirmam que ao utilizarem 0,25% de OV com 0,5% de extrato de canela em discos de folhas de videiras, ocorreu inibição de 100% da atividade dessa enzima. Esses resultados estão de acordo com os do presente trabalho, pois em associação com

10% da SMA de *A. brasiliensis* com o OV, observou-se que em soja ocorreu indução de 66% e em feijão de aproximadamente 1000%. Quando empregado apenas 0,05 mL L⁻¹ de OV, para feijão a indução foi de 830%, soja de 133% e sorgo de 25%, todos em relação ao tratamento testemunha, somente água.

Determinação do efeito fungitóxico da sma de *Agaricus brasiliensis* sobre o míldio (*Plasmopara viticola*) da videira em condições de campo

Observou-se ausência de diferença estatística entre os tratamentos com a SMA de *A. brasiliensis* e OV, sobre a AACPD do míldio em videiras 'Isabel Precoce', em condições de campo (Tabela I).

Porém em trabalhos realizados com esses produtos de forma isolada, foram observados efeitos fitotóxicos, Garcia et al. (2015), verificaram que o óleo vegetal na dose de 0,2 mL L⁻¹ aplicado em discos de folhas de videira 'Isabel Precoce', proporcionou redução de 82,5% a AACPD do míldio em comparação com o tratamento testemunha. Oliari et al. (2014), também observaram que a suspensão obtida a partir de micélio de *A. brasiliensis*, na concentração de 10% reduziu a germinação de zoósporos de *Plasmopara viticola* em 50%. Camili et al. (2009) ao testar os extratos de *A. blazei* e *L. edodes* aplicados sobre uva 'Itália' analisaram que após 4h de inoculação de *Botrytis cinerea* não houve alteração no índice de evolução da doença. Dessa forma, pode-se dizer que os produtos podem desencadear efeito negativo sobre o desenvolvimento do míldio da videira, porém a

forma de aplicação e o horário realizado devem ser revistos em trabalhos futuros.

Tabela 1. Suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis* associada ao óleo vegetal na área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio de videira 'Isabel Precoce'.

Tratamentos	AACPD do míldio de videira 'Isabel Precoce'
Testemunha	206.70 *ns
0.05% de óleo vegetal	182.25
SMA de <i>A. brasiliensis</i>	209.12
SMA de <i>A. brasiliensis</i> associada ao OV	200.81
ASM	209.12
Calda bordalesa	174
CV (%)	18.58

Conclusão

Dessa forma, conclui-se que a SMA de *A. brasiliensis* apresentam compostos que possivelmente apresentam comportamentos elicitor induzindo a síntese das fitoalexinas faseolina em feijão, glicelolina em soja e dioxiantocianidina em sorgo. Porém, não observou-se controle do míldio em videiras 'Isabel Precoce' em campo. Deste modo, sugere-se que novas pesquisas sejam conduzidas com doses elevadas da SMA de *A. brasiliensis* para se obter valores eficazes para o controle dessa doença em videira.

Referências

- ALENCAR, L. D. ; PEREIRA NETO, J. R. ; DE ALENCAR, L. D. ; BARBOSA, E. M. ; SOUZA, A. S. Uso indiscriminado de agrotóxicos no projeto de irrigação das várzeas de Sousa-PB. **Revista Verde**, v. 9, n. 4, p. 117-122, 2014.
- ARRUDA, R. S.; MESQUINI, R. M.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; NASCIMENTO, J. F. Efeito de extratos de cogumelos na indução de fitoalexinas e no controle de oídio da soja em casa de vegetação. **Journal Biociencia**, v.28, n.2, p.164-172, 2012.
- AYERS, A. R.; EBE, J.; FINELLI, F.; BERGER, N.; ALBERSHEIM, P. Horst-pathogen interactions IX quantitative assays of elicitor activity and characterization of the elicitor present in the extracellular medium of cultures of *Phytophthora megasperma* var. soiae, **Plant Physiol.**, v.57, n.5, p. 751-759, 1976. DOI: 10.1104/pp.57.5.751
- AZEVEDO, L. A. S. de. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo. Novartis Biociências-Setor Agro, 1997, 114p.
- BRAGA, M. R. **Fitoalexinas**. In: _____, 1. ed. Piracicaba: Interação Planta Patógeno - Fisiologia, bioquímica e biologia molecular. 2008. P.305-346.
- CAMELINI, C. M.; MENDONÇA, M. DE; DIAS, P. F.; MARASCHUN, M. β-glucanas do cogumelo *Agaricus subrufescens* Perk (Sinonímia *Agaricus blazei*/Murril sensu Heinemann = *Agaricus brasiliensis* Wasser, Diduck, de Amazonas & Stamets). **Biotecnologia. Ciência e Desenvolvimento**, v. 35, p.36-47, 2005.

- CAMILI, E.C.; BENATO, E.A.; PASCHOLATI, S.F.; CIA, P. Extrato de *Agaricus blazei* e *Lentinula edodes* no controle pós-colheita de mofo conzento em uva 'Itália'. **Pesquisa Aplicada ; Agrotecnologia**, v.2, n.2, P. 155-162, 2009.
- CAMPBELL, C. L.; MADDEN, L. V. **Introduction to plant disease epidemiology**. New York: John Wiley, 1990. 532p.
- DIXON, R. A.; DEY, P. M.; LOWTON, M. A.; LAMB, C. J. Phytoalexin induction in French bean: intercellular transmission in cell suspension cultures and hypocotyl sections of *Phaseolus vulgaris*. **Plant Physiol.**, v.2, p. 251-256, 1983. DOI: 10.1104/pp.71.2.251
- FEDRIGO, K.; GARCIA, C.; GABRIEL, A.; FARIA, C. M. D. R.; RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Efeito do extrato aquoso de canela e óleo vegetal sobre a atividade da catalase. **In: Reunião brasileira sobre indução de resistência em plantas a patógenos**, Maringá. 2014. Anais, v.2.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analyse system. **Ciência e Agrotecnologia**, v.35, p.1039-1042, 2011.
- GARCIA, C.; FARIA, C. M. D. R.; BOTELHO, R. V.; LEITE, C. D.; CARDOZO, K. DE S. Óleo vegetal no controle do míldio em videiras casta'Isabel Precoce'em sistema biológico. **Ciência e Técnica Vitivinícola**, v. 30, p. 21-18, 2015.
- GESSLER, C.; PERTOT I.; PERAZZOLLI, M. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. **Phytopat. Medit.**, v. 50, p. 3-44, 2011.
- LEITE, C. D.; GARCIA, C.; FEDRIGO, K.; GABRIEL, A.; FARIA, C. M. D. R.; BOTELHO, R. V. Óleo vegetal na atividade de catalase em videiras cv. Isabel Precoce em casa de vegetação. **In: Reunião brasileira sobre indução de resistência em plantas a patógenos**, Maringá. 2014. Anais, v.2.
- MAIA A. J.; OLIVEIRA J. S. B.; SCHWAN-ESTRADA K. R. F.; FARIA C. M. R.; BATISTA A. F.; COSTA, W. F.; BATISTA, B. N. The control of isariopsis leaf spot and downy mildew in grapevine cv. Isabel with the essential oil of lemon grass and the activity of defensive enzymes in response to the essential oil. **Crop Protec.**, v. 63, p. 57-67, 2014. DOI: org/10.1016/j.cropro.2014.05.005
- MARINI, D.; MENSCH R- FREIBERGER, M. B.; DARTORA, J.; FRANZENER, G.; GARCIA, R. C.; STANGARLIN, J. R. Efeito antifúngico de extratos alcoólicos de própolis sobre patógenos da videira. **Arquivos Instituto Biológico**,v. 79, p. 305-308, 2012. DOI: dx.doi.org/10.1590/S1808-16572012000200023
- MOURA, G. S.; FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Atividade antimicrobiana e indutora de fitoalexinas do hidrolato de carqueja [*Baccharis trimerea* (Less) DC.]. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 2, p. 309-315, 2014. DOI: doi.org/10.1590/1983-084X/10_121
- NICHOLSON, R. L.; KOLLIPARA, S. S.; VINCENT, J. R.; LYONS, P. C.; CADENA-GOMEZ, G. Phytoalexin synthesis by the sorghum mesocotyl in response to infection by pathogenic and nonpathogenic fungi. **Proceed. of the Nation. Acad. Scienc.**, v. 84, n. 16, p. 5520-5524, 1987. DOI: 10.1073/pnas.84.16.5520
- OLIARI, I. C. R.; GARCIA, C.; FEDRIGO, K.; MARCHI, T.; MENEGASSI, T.; DALLA SANTA, H. S.; FARIA, C. M. D. R. Suspensão miceliada de *Agaricus brasiliensis* na germinação de *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio da videira. **Caderno de Agroecologia**, v. 9,p. 1-5, 2014.
- PARK, Y. K.; IKEGAKI, M.; ALENCAR, S. M.; AGUIAR, C. L. Determinação da concentração de β -glucano em cogumelo *Agaricus blazei* Murill por método enzimático. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n.3, p. 312-316, 2003. DOI: doi.org/10.1590/S0101-20612003000300003
- SILVA, R.F.; PASCHOLATI, S.F.; BEDENDO, I.P. Indução de resistência em plantas de berinjela por *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*: aspectos bioquímicos e biomassa vegetal. **Summa Phytopathologica**, v. 34, p. 137-144, 2008.
- SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; BONALDO, S. M. Uso de extratos vegetais e cogumelos na indução de resistência a patógenos. **In: Indução de resistência em plantas a patógenos**, p.9-28. Lavras. 2008.
- VIGO, S.C.; FRANZENER, G.; STANGARLIN, J. R.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; CRUZ, M. E. S. Indução de gliceolina em soja e inibição da germinação de conídios de *Microsphaera difusa* pela tintura vegetal de *Pfaffia glomerata*. **Fitopatologia Brasileira**, v. 26, n. 35, 2001.
- WULFF, N. A.; PASCHOLATI, S. F. Preparações de *Saccharomyces cerevisiae* elicitoras de fitoalexinas em mesocótilos de sorgo. **Scientia Agricola**, v. 55, n. 1, p. 138-143, 1998. DOI: doi.org/10.1590/S0103-90161998000100022
- WULFF, N. A.; PASCHOLATI, S. F. Caracterização parcial de elicitores de fitoalexinas em sorgo isolados de *Saccharomyces cerevisiae*. **Fitopatologia Brasileira**,v. 24, p. 428-43, 1999.