

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CENTRO-OESTE, UNICENTRO -PR

**Óleo vegetal no controle do míldio e suspensão miceliada
aquosa de *Agaricus brasiliensis* na indução de resistência
de videiras cv. Isabel Precoce**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

CARLA GARCIA

GUARAPUAVA-PR

2014

CARLA GARCIA

**Óleo vegetal no controle do míldio e suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*
na indução de resistência de videiras cv. Isabel Precoce**

Dissertação apresentado à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências da disciplina Pesquisa Orientada, do Programa de Pós-Graduação em Agronomia - Mestrado, área de concentração em Produção Vegetal.

Aprovado em 17 de fevereiro de 2014

Prof^a. Dr^a. Cacilda Márcia Duarte Rios Faria
Orientadora

Prof^a. Dr^a. Herta Stutz Dalla Santa
Membro da banca

Prof^a. Dr^a. Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada
Membro da banca

GUARAPUAVA-PR

2014

Catálogo na Publicação
Biblioteca Central da Unicentro, Campus Cedeteg

G216o Garcia, Carla
Óleo vegetal no controle do míldio e suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis* na indução de resistência de videiras cv. Isabel Precoce / Carla Garcia. – – Guarapuava, 2014
xiv, 78 f. : il. ; 28 cm

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual do Centro-Oeste, Programa de Pós-Graduação em Agronomia área de concentração em Produção Vegetal, 2014

Orientadora: Cacilda Márcia Duarte Rios
Banca examinadora: Herta Stutz Dalla Santa, Kátia Regina Freitas Schwan-Estrada, Aline José Maia

Bibliografia

1. Agronomia. 2. Produção vegetal. 3. . 4. Melhoramento vegetal. 5. *Plasmopara viticola*. 6. Catalase. 7. Peroxidase. 8. Polifenoloxidase. I. Título. II. Programa de Pós-Graduação em Agronomia.


CDD 634.8

Carla Garcia

**ÓLEO VEGETAL NO CONTROLE DO MÍLDIO E SUSPENSÃO MICELIADA AQUOSA
DE *Agaricus brasiliensis* NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DE VIDEIRAS cv. ISABEL
PRECOCE”.**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Centro-Oeste, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal, para a obtenção do título de Mestre.

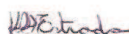
Aprovada em 17 de fevereiro de 2014.



Prof^a. Dr^a. Cacilda Marcia Duarte Rios Faria
(UNICENTRO)



Prof^a. Dr^a. Herta Stutz Dalla Santa
(UNICENTRO)



Prof^a Dr^a. Katia Regina Freitas Schwan-Estrada
(UEM)



Dr^a. Aline José Maia
(UNICENTRO)

GUARAPUAVA-PR

2014

Dedico

Aos meus pais, Clara Cubiça e José Clair Garcia, pelo apoio e compreensão, tornando possível mais essa conquista em minha vida.

*“O que prevemos raramente ocorre; o que menos esperamos geralmente acontece.”
(Benjamin Disraeli)*

Agradecimentos

- A Deus, por ter me capacitado a tornar realidade essa conquista em minha vida;
- À minha família, principalmente meus pais Clara Cubiça e José Clair Garcia e minha irmã Isabelle Garcia pela confiança depositada em meus estudos;
- À minha orientadora Prof^a Dr^a Cacilda Márcia Duarte Rios Faria, por seus valiosos ensinamentos durante os anos de graduação, mestrado e pelo apoio e amizade;
- Ao prof Dr Renato Vasconcelos Botelho pela co-orientação e ensinamentos;
- À Prof^a Dr^a Herta Stutz Dalla Santa pelas contribuições diretas em etapas cruciais para o desenvolvimento desta pesquisa, e, principalmente por seus ensinamentos durante a condução dos experimentos;
- Em especial a Aline Maia e Carla Leite, pelas orientações nos experimentos e acima de tudo, por estarem presentes em todos os momentos no decorrer do mestrado. Obrigada, por tornarem possível essa conquista!
- A todos do laboratório de Fitopatologia, em especial a Kamila Cardozo de Souza, por nunca ter medido esforços para me ajudar a conduzir os experimentos, assim como também a Tainara Menegassi pelo auxílio em alguns trabalhos;
- À Universidade Estadual do Centro-Oeste, UNICENTRO, em especial ao Departamento de Agronomia e ao programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal pela oportunidade do curso do mestrado;
- À Coodenação de Aperfeiçoamento do Nível Pessoal-CAPES, pela concessão de bolsa durante o mestrado;
- Em fim a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para que eu pudesse chegar ao fim de mais essa conquista!!!

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	I
RESUMO.....	III
1.INTRODUÇÃO	1
2.REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1. Videira (<i>Vitis</i> sp.)	3
2.1.1. Cultivar Isabel Precoce	3
2.1.2. Míldio da videira	4
2.1.3. Controle	6
2.1.3.1. Controle do míldio da videira	6
2.1.4. Controle alternativo.....	6
2.1.4.1. Óleo vegetal.....	7
2.2. Indução de resistência.....	8
2.2.1. Agentes indutores	9
2.2.1.1. Interação elicitor/receptor	9
2.2.2. Principais mecanismos envolvidos na indução de resistência	10
2.2.2.1. Catalase	10
2.2.2.2. Peroxidase.....	11
2.2.2.3. Polifenoloxidase	12
2.2.3. Mecanismos ativados na planta	12
2.3. Cogumelo <i>Agaricus brasiliensis</i> na indução de resistência de plantas a patógenos.....	15
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
CAPITULO I. ÓLEO DE SOJA NO CONTROLE DO MÍLDIO EM VIDEIRAS CV. ISABEL PRECOCE.....	25
RESUMO.....	25

1. INTRODUÇÃO	27
2. MATERIAL E MÉTODOS	29
2.1. Local do experimento	29
2.2. Efeito do óleo vegetal na germinação de <i>Plasmopara viticola</i>	29
2.3. Efeito do óleo vegetal em discos de folha de videira (<i>Vitis labrusca</i>) cv. Isabel Precoce	30
2.4. Efeito do óleo vegetal em videira (<i>Vitis labrusca</i>) cv. Isabel Precoce em condições de casa de vegetação em Guarapuava-PR.....	30
2.5. Efeito do óleo vegetal em videiras (<i>Vitis labrusca</i>) cv. Isabel Precoce em condições de campo em Guarapuava-PR.....	31
2.6. Análises estatísticas	32
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
3.1. Efeito do óleo vegetal na germinação de <i>Plasmopara viticola</i>	33
3.2. Efeito do óleo vegetal em discos de folha de videira (<i>Vitis labrusca</i>) cv. Isabel Precoce	35
3.3. Efeito do óleo vegetal em videiras (<i>Vitis labrusca</i>) cv. Isabel Precoce em condições de casa de vegetação em Guarapuava-PR.....	36
3.4. Efeito do óleo vegetal em videiras cv. Isabel Precoce no controle de <i>Plasmopara viticola</i> em condições de campo.....	38
4.CONCLUSÕES.....	40
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
CAPITULO II. EFEITO DA SUSPENSÃO MICELIADA AQUOSA DE <i>AGARICUS BRASILIENSIS</i> NO CONTROLE E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DE VIDEIRAS CV. ISABEL PRECOCE CONTRA O MÍLDIO (<i>PLASMOPARA VITICOLA</i>).....	44
RESUMO.....	44
1. INTRODUÇÃO	46
2. MATERIAL E MÉTODOS	48
2.1. Local do experimento	48
2.2. Obtenção do <i>A. brasiliensis</i>	48
2.2.1. Manutenção e repique do <i>A. brasiliensis</i>	48

2.2.1.1. Preparo do inóculo do <i>A. brasiliensis</i>	48
2.2.2. Obtenção da suspensão miceliada aquosa de <i>A. brasiliensis</i>	49
2.3. Efeito da suspensão miceliada aquosa de <i>A. brasiliensis</i> no controle de <i>Plasmopara viticola</i> , agente causal do míldio da videira cv. Isabel Precoce.....	49
2.3.1. Avaliação da germinação <i>in vitro</i> de esporângio de <i>P. viticola</i>	49
2.3.2. Avaliação em condições de casa de vegetação com plantas envasadas	50
2.4. Efeito da suspensão miceliada aquosa de <i>A. brasiliensis</i> na indução de resistência de videira cv. Isabel Precoce contra o míldio (<i>P. viticola</i>).....	50
2.4.1. Coleta e armazenagem das amostras de videira (<i>Vitis labrusca</i>) após serem tratadas com a suspensão miceliada aquosa de <i>A. brasiliensis</i>	50
2.4.1.1. Preparo dos extratos de discos de folhas de videira cv. Isabel Precoce para análises enzimáticas.	51
2.4.1.2. Proteína Total.....	51
2.4.1.3. Catalase	51
2.4.1.4. Peroxidase	52
2.4.1.5. Polifenoloxidase	52
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	54
3.1. Efeito da suspensão miceliada aquosa de <i>A. brasiliensis</i> no controle de <i>Plasmopara viticola</i> , agente causal do míldio da videira cv. Isabel Precoce.....	54
3.1.1. Na germinação, <i>in vitro</i> , de esporângios de <i>P. viticola</i>	54
3.1.2. Efeito da suspensão miceliada aquosa de <i>A. brasiliensis</i> em videira cv. Isabel Precoce em condições de casa de vegetação em Guarapuava-PR.....	57
3.2. Efeito da suspensão miceliada aquosa de <i>A. brasiliensis</i> na indução de resistência de videira cv. Isabel Precoce contra o míldio (<i>P. viticola</i>).....	59
3.2.1. Catalase.....	59
3.2.2. Peroxidase	62
3.2.3. Polifenoloxidase.....	67
4. CONCLUSÕES.....	70
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

ANEXO.....77

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Relação entre ataque de patógeno e mecanismos de defesa de plantas. Adaptado de Taiz & Zeiger (1998) e Dangl et al. (2000). 14
- Figura 2:** Germinação de esporângios de *Plasmopara viticola* submetidos às doses de 0,05; 0,10; 0,20; 0,40 e 0,80 ml L⁻¹ de óleo vegetal de soja emulsionáveis os tratamentos testemunha somente água e padrão com calda bordalesa, nos períodos de: (A) 2h; (B) 4h; (C) 6h; (D)12h e (E) 24h (Guarapuava-PR, 2014). 34
- Figura 3:** Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio em discos de folha de videira cv. Isabel Precoce tratadas com as doses de 0,10; 0,20; 0,40 e 0,80 mL L⁻¹ de óleo vegetal de soja emulsionável, tratamento testemunha (somente água) e calda bordalesa (Guarapuava-PR, 2014). 35
- Figura 4:** Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio em videiras cv. Isabel Precoce em condições de casa de vegetação, tratadas com as doses de 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,6 mL L⁻¹ de óleo vegetal de soja (Guarapuava-PR, 2014). 37
- Figura 5:** Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio da videira cv. Isabel Precoce em condições de campo, tratadas com as doses de 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,6 mL L⁻¹ de óleo vegetal de soja (Guarapuava, 2014). Números seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. 38
- Figura 6:** Germinação de esporângios de *Plasmopara viticola* submetidos às doses de 1; 5; 10; 15; 20% suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*, testemunha absoluta (somente água) e tratamento padrão acizenzolar-S-metil (0,005%). Nos períodos de: (A) 2h; (B) 4h; (C) 6h; (D)12h e (E) 24h, após a aplicação dos tratamentos (Guarapuava-PR, 2014). 55
- Figura 7:** Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio em videiras cv. Isabel Precoce em casa de vegetação, tratadas com as doses de 1, 5, 10, 15 e 20% da suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*, testemunha absoluta (sem tratamento) e acibenzolar-S-metil (ASM) (Guarapuava, 2014). Números seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade... 58
- Figura 8:** Atividade de catalase em discos de videira (cv. Isabel Precoce), tratados com as doses de 1, 5, 10, 15 e 20% da suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*, Acibenzolar-S-metil (0,005%) e testemunha absoluta (sem tratamento) coletados nos períodos de 6h (A), 12h (B), 24h (C), 48h (D), 72h(E) e 96h(F), após a aplicação dos tratamentos (Guarapuava-PR, 2014). 61
- Figura 9:** Atividade de peroxidase em discos de videira (cv. Isabel Precoce), tratados com as doses de 1, 5, 10, 15 e 20% da suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*, Acibenzolar-S-metil (0,005%) e testemunha absoluta (sem tratamento) coletados nos períodos de 6h (A), 12h (B), 24h (C), 48h (D), 72h(E) e 96h (F) , após a aplicação dos tratamentos (Guarapuava-PR, 2014). 64

Figura 10: Atividade de polifeniloxidase em discos de videira (cv. Isabel Precoce), tratados com as doses de 1, 5, 10, 15 e 20% da suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*, Acibenzolar-S-metil (0,005%) e testemunha absoluta (sem tratamento) coletados nos períodos de 6h (A), 12h (B), 24h (C), 48h (D), 72h(E) e 96h (F), após a aplicação dos tratamentos (Guarapuava-PR, 2014). **68**

Figura 11A: Escala diagramática para a avaliação do míldio da videira expressa pela porcentagem de área lesionada AZEVEDO (1997). **78**

RESUMO

GARCIA, Carla. **Óleo vegetal no controle do míldio e suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis* na indução de resistência de videiras cv. Isabel Precoce**. 2014. 89p. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal). UNICENTRO.

A viticultura apresenta alguns entraves durante o ciclo de cultivo, dentre eles está o míldio da videira, que apresenta como agente causal o oomiceto *Plasmopara viticola*, que acarreta em perdas na produtividade. Baseando-se nesse fato o presente trabalho teve como objetivo testar como controle alternativo, as doses de 0,05; 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,60 mL L⁻¹ de óleo vegetal (OV) (Natur'1 óleo[®], Stoller) e como tratamento padrão a calda bordalesa (0,6:0,3:100 (cal: sulfato cobre: água) e tratamento testemunha somente água, na germinação e severidade do míldio da videira em discos de folhas em condições de laboratório, em plantas de videira em casa de vegetação e em campo; também avaliar os efeitos das doses de 1, 5, 10, 15 e 20% de suspensão miceliada aquosa (SAM) de *Agaricus brasiliensis*, acibenzolar-S-metil (ASM) e como tratamento testemunha somente água, na germinação, na severidade do míldio em casa de vegetação e no potencial em induzir a atividade das enzimas catalase (CAT), peroxidase (POX) e polifenoloxidase (PPO) em discos retirados de folhas de videira cv. Isabel Precoce. As doses de OV controlaram a germinação dos zoósporos de *Plasmopara viticola*, reduziram a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio em discos de folha e em videiras em condições de casa de vegetação. Em condições de campo, não houve regressão em função das doses, no entanto, a dose de 0,1 mL L⁻¹ reduziu a AACPD, não diferindo-se do tratamento com calda bordalesa. Com relação a SAM de *Agaricus brasiliensis*, observou-se efeito direto sobre o patógeno, porém *in vivo* os tratamentos não foram significativos na redução da área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio em condições de estufa. Com relação as atividades enzimáticas, observou-se que os tratamentos reduziram a catalase (CAT), aumentaram a peroxidase (POX) e não interferiram na polifenoloxidase (PFO).

Palavras chave: *Plasmopara viticola*, catalase, peroxidase, polifenoloxidase.

ABSTRACT

GARCIA, Carla. **Vegetable oil in the control of downy mildew and aqueous suspension of *Agaricus brasiliensis* miceliada in the induction of resistance in grapevine cv. Isabel Precoce**. 2014. 89p. Dissertation (Master of Science in Agronomy). UNICENTRO.

Viticulture presents some obstacles during the crop cycle, among them is the downy mildew, which presents as a causal agent *Plasmopara viticola* oomycete, which leads to productivity losses. Based on this fact, the present study aimed to test how alternative control, doses of 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80 and 1.60 mL L⁻¹ vegetable oil (VO) (Natur'l ® oil, Stoller) as standard treatment and copper sulphate (0,6:0,3:100 (cal: copper sulfate: water) and witness only water treatment on germination and severity of downy mildew in leaf discs under laboratory conditions in vine plants in greenhouse and field; also evaluate the effects of doses of 1 , 5, 10 , 15 and 20% of miceliada aqueous suspension (MAS) *Agaricus brasiliensis*, acibenzolar -S- methyl (ASM) and only water as a control treatment, on germination , severity of downy mildew in the greenhouse and in the potential to induce the activity of catalase (CAT), peroxidase (POX) and polyphenol oxidase (PPO) in discs taken from leaves of grapevine cv. Isabel Precoce. The doses of VO controlled germination of zoospores of *Plasmopara viticola*, reduced the area under the disease progress (AUDP) of leaf discs mildew in vines and under conditions of greenhouse curve. Under field conditions, there was no regression with the doses being, however, a dose of 0.1 ml L⁻¹ AACPD reduced, not differing from treatment with bordeaux mixture. Regarding MAS of *Agaricus brasiliensis*, we observed a direct effect on the pathogen, but *in vivo* treatments were not significant in reducing the area under the disease progress (AUDPC) of downy mildew in greenhouse conditions curve. Regarding the enzymatic activities, it was observed that the treatments reduced catalase (CAT), increased peroxidase (POX) and did not affect the polyphenol oxidase (PPO).

Keywords: *Plasmopara viticola*, catalase, peroxidase, polyphenol oxidase.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil a viticultura ocupa uma área de 83.700 hectares, distribuídas desde o extremo sul até o nordeste, em regiões de clima temperado, subtropical e tropical. A produtividade anual dessa cultura pode variar de 1.300 a 1.400 toneladas, podendo ser ressaltado que em 2012, as uvas destinadas ao processamento corresponderam a 57,07% da produção nacional e as demais, com 42,93% ao consumo *in natura* (ALARCON et al., 2010; CAMARGO et al., 2011; MELLO, 2013; POMMER et al., 2003).

A viticultura paranaense concentra-se na região norte, onde se cultiva uvas de mesa e uvas rústicas para a industrialização. No sul do estado são produzidas uvas a partir de variedades americanas e híbridas destinadas a vinificação e ao consumo *in natura* (SATO ; ROBERTO, 2008).

Dentre as cultivares destinadas a produção de suco e à elaboração de vinho de mesa, está a Isabel Precoce, que pode ser considerada uma alternativa para a vitivinicultura tradicional, devido à possibilidade de duas safras durante o ano, antecipando o período de colheita e de processamento (CAMARGO, 2004).

Como a maioria das cultivares, à Isabel Precoce também se depara com alguns entraves durante o cultivo. Dentre esses, está à ocorrência de fitopatógenos, como o oomiceto *Plasmopara viticola* Berl. & De Tony, agente causal do míldio da videira, uma das principais doenças dessa cultura, caracterizada por atacar todos os órgãos verdes da planta, principalmente as folhas, que conseqüentemente diminui a taxa fotossintética e a produtividade, ocasionando perdas qualitativas e quantitativas, devido aos custos despendidos nas medidas de controle (TAVARES ; CRUZ, 2002; SÔNEGO et al., 2006).

Para o controle dessa doença se utilizam basicamente fungicidas sintéticos, que apesar da eficiência, acarretam em alguns problemas, como resistência dos patógenos, fitotoxidez e poluição ambiental (PERUCH et al., 2007).

Com o intuito de mudar esse cenário, produtos alternativos podem ser testados no controle e na indução de resistência dessas plantas. Silva et al. (2012), verificaram que o uso do óleo vegetal apresenta grande potencial de controle do míldio e da antracnose em videira. Outra forma de reduzir esses problemas é o uso de agentes indutores de resistência, como observado por Silva et al. (2008), que aplicou extrato aquoso obtido a

partir do pó seco de basidiomas desidratados de *Agaricus brasiliensis* em berinjela e observou potencial de resistência contra a bactéria *Ralstonia solanacearum*.

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivos avaliar o efeito do óleo vegetal (Natur'1 óleo[®], Stoller, produto comercial) no controle do míldio da videira e a suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis* como fungistática e/ou fungitóxica sobre o *Plasmopara viticola* e sua ação na indução de resistência de videira cv. Isabel Precoce contra o míldio da cultura.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Videira (*Vitis* sp.)

A videira, pertencente à família Vitaceae, é considerada uma das culturas mais antigas da civilização mundial. Apresenta cultivares híbridas, européias (*Vitis vinifera* L.) e americanas (*Vitis labrusca* e *Vitis bourquina*) caracterizadas por sua rusticidade. A base para o primeiro ciclo de cultivo da viticultura brasileira foi com cultivares americanas, que apresentam uma ampla utilização no país (HERNANDES ; MARTINS, 2010; MAIA ; CAMARGO, 2005).

Essa atividade no Brasil ocupa uma área de aproximadamente 83.700 hectares, com produção anual que pode variar entre 1,3 e 1,4 milhão de toneladas. Esse setor vitivinícola apresenta como característica a diversidade, é formado por varias cadeias produtivas como uvas finas e americanas e híbridas para a mesa, uvas para a elaboração de vinhos finos, e uvas americanas e híbridas para a elaboração de vinhos de mesa e sucos. Para a elaboração desses dois últimos subprodutos é necessário o uso de cultivares de ciclo curto, que dessa forma permitem a obtenção de duas ou mais safras ao ano, visando assim à ampliação do período de processamento, como é o caso do clone Isabel Precoce (CAMARGO et al., 2011; CAMARGO et al., 2010).

2.1.1. Cultivar Isabel Precoce

A cultivar Isabel Precoce é originária de uma mutação espontânea, identificada e propagada em propriedade particular no município de Farroupilha-RS. As análises para a confirmação do clone foram realizadas na Embrapa Uva e Vinho, em Bento Gonçalves-RS. No Banco Ativo de germoplasma de videiras, foi registrada com o número 2526 (CAMARGO, 2004).

Apresenta as características gerais da cultivar Isabel, sendo uva tinta, rústica e fértil, com sabor característico das labruscas, porém sua maturação ocorre com antecedência de cerca de 33 dias em relação a sua cultivar origem. A redução no ciclo vegetativo ocorre entre a floração e a colheita, havendo assim uma aceleração em seu desenvolvimento. O cacho da cultivar é cilíndrico-cônico, alado e cheio. A fecundação é prejudicada quando ocorrem

chuvas no período de floração, originando cachos mais soltos. A baga é preta e sua maturação é uniforme no cacho (CAMARGO, 2004; CAMARGO et al., 2010).

Esse clone pode ser destinado para diversas finalidades, como uva de mesa, na elaboração de vinho, produção de destilados, como de vinagre, sucos e também pode ser matéria-prima para a fabricação de doces e geléias (CAMARGO et al., 2010).

Trata-se de uma cultivar vigorosa e fértil, com grande capacidade produtiva. O comportamento em relação às doenças fúngicas é muito semelhante ao da cultivar Isabel, apresentando relativa susceptibilidade a requeima (*Alternaria* sp.), à ferrugem (*Phakopsora euvitis*), à antracnose (*Elsinoe ampelina*), ao oídio (*Uncinula necator*) e principalmente ao míldio da videira (*P. viticola*) (CAMARGO, 2004).

2.1.2. Míldio da videira

Um fator considerado limitante à viticultura é a ocorrência de doenças, caso medidas adequadas de controle não sejam adotadas (NAVES et al., 2005), principalmente quando cultivadas em condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento de patógenos durante o período vegetativo (SÔNEGO, 2000).

Dentre essas doenças, está o míldio da videira, causado pelo oomiceto *Plasmopara viticola* Berl. & De Tony pertencente ao reino Chromista, filo Oomycota, classe Oomycetes, ordem Peronosporales e família Peronosporaceae. Trata-se de um parasita obrigatório, que necessita de material vivo para completar seu ciclo vital, como também apresenta zoósporos biflagelados, hifas cenocíticas, micélio não septado, ramificado e haustórios (RIBEIRO, 2003).

Esse patógeno apresenta reprodução assexuada e sexuada. Na fase assexuada, as hifas originam os esporangiósforos que sustentam os esporângios, o conteúdo dessa estrutura diferencia-se em zoósporos, que são liberados e germinam quando os esporângios se rompem. Na reprodução sexuada, forma-se o oogônio e o anterídio, seguidos de meiose e plasmogamia, originando esporo sexuado, dito oósporo, que apresenta parede espessa e atua como estrutura de resistência. Em condições de clima temperado esse tipo de esporo pode permanecer em hospedeiro alternativo, podendo infectar a videira na próxima safra, como também pode ser disseminado pelo vento e pela água. Em condições de clima tropical e subtropical essa sobrevivência ocorre através do micélio e dos esporângios em plantas alternativas

(TAVARES ; CRUZ, 2002; BEDENDO, 2011).

O zoósporo só germina na superfície foliar na presença de um filme de água, nessa condição forma-se tubo germinativo que penetra no tecido foliar via estômato ou ferimento. Ao atingir tecidos internos forma-se o micélio que se desenvolve formando haustórios no interior das células do vegetal. Com a retirada de nutrientes o patógeno apresenta amplo desenvolvimento nos tecidos do hospedeiro, com conseqüente aparecimento dos sintomas externos. Na face adaxial da folha observam-se manchas translúcidas, ditas manchas de óleo, que quando vistas contra uma fonte de luz, com tom de amarelo, que com a evolução da doença tornam-se necrosadas. Simultaneamente ao crescimento do micélio acontece a reprodução do patógeno, que emite estruturas reprodutivas através dos estômatos, ou seja, na face abaxial correspondente a fase superior onde estão presentes as manchas de translúcidas da folha, observam-se crescimento micelial esbranquiçado (PIRES et al., 2010; BEDENDO, 2011).

Esse patógeno pode provocar importantes prejuízos, pois infecta todos os órgãos verdes da planta, em especial as folhas, reduzindo a área fotossintética ativa e conseqüentemente à desfolha precoce, que além da causar perda da produção anual e enfraquecimento da planta, devido à redução das reservas, compromete as safras futuras (SÔNEGO, 1998; TAVARES ; CRUZ, 2002; NETO, 2008).

Nas bagas podem ocorrer pequenas infecções, podendo ser observado ausência de frutificação do patógeno na superfície do órgão. Para que seja verificado esse fenômeno o oomiceto deve se desenvolver no interior da baga, conferindo-lhe coloração escura. Essa doença apresenta como período crítico da pré-floração ao início da frutificação, dessa forma a produção poderá ser totalmente comprometida, se medidas eficientes de controle não forem realizadas (SÔNEGO, 1998).

O ataque do patógeno possui estreita interação com o clima. No entanto, as plantas produzem alterações nas variáveis climáticas dentro do seu próprio dossel. Dessa forma, a incidência e a severidade das doenças sofrem influências desse microclima (GAVA et al., 2004).

Sendo assim, para que ocorra o desenvolvimento do míldio na videira são necessárias condições predisponentes com umidade ótima entre 95 e 100% para que haja esporulação branca do patógeno na parte inferior da mancha e temperatura ótima de 25°C apresentando como limites entre 10 e 30°C (PIRES et al., 2010; POMMER et al., 2003).

2.1.3. Controle

Em algumas regiões devido a determinadas condições climáticas observadas, é necessário a aplicação preventiva de fungicidas. No cultivo convencional da videira, na Serra Gaucha, são realizados em média 14 aplicações com fungicidas, que equivalem a 30% do custo da produção (FREIRE et al., 1992). No Estado do Paraná, como forma de garantir a produtividade, essas aplicações podem chegar a 60, o que em alguns casos torna-se um exagero (CHAVARRIA ; SANTOS, 2009).

Além da aplicação de fungicidas, pode ser realizado o manejo integrado de pragas e doenças durante o ciclo da cultura. Deve ser levado em consideração a escolha do local para a implantação do pomar, sua topografia, presença de ventos dominantes, principalmente em regiões com depressões com alta umidade relativa. Também se faz necessário o manejo adequado de irrigação e adubação balanceada, para suprir as necessidades da planta, o que proporciona resistência a patógenos, e ainda épocas de podas ou podas verdes, como forma de manter a quantidade de folhas adequadas para a manutenção da produtividade em padrões ideais para cada cultivar evitando a sobreposição dos ramos (SOUZA ; PALLADINI, 2005).

2.1.3.1. Controle do míldio da videira

O método de controle mais frequentemente utilizado por produtores para o controle do míldio da videira é a aplicação de fungicidas sistêmicos e de contato (SÔNEGO et al., 2005).

Como forma de reduzir os impactos causados por esses produtos químicos, outras medidas podem ser utilizadas, como manter o solo drenado, evitar o plantio em baixadas, eliminar restos de cultura, evitar adubações em excesso, utilizar espaçamento correto na implantação do vinhedo e o manejo de podas (GARRIDO ; SÔNEGO, 2007; PIRES et al., 2010).

2.1.4. Controle alternativo

Para o controle de doenças em videira se observa o uso intensivo de agrotóxicos. O crescente aumento na utilização de defensivos agrícolas para esse controle vem despertando a

consciência para alguns problemas, dentre eles encontra-se a contaminação ambiental, desequilíbrio biológico, alteração na ciclagem de nutrientes e da matéria orgânica, eliminação de organismos benéficos, redução da biodiversidade, acúmulo de resíduos nos alimentos, contaminação do agricultor, além do aumento dos custos da produção (BETTIOL ; GHINI, 2001; GOMES, 2007).

Neste contexto, buscam-se medidas alternativas de controle, que visam reduzir os gastos e os problemas causados pelo uso desses produtos, a fim de testar substâncias que sejam capazes de substituir ou diminuir a utilização desses agroquímicos de forma que também possam ser uma alternativa para o controle de patógenos (PERUCH et al., 2007; PINTO, 2011) .

Entre os produtos não convencionais podem-se incluir o óleo vegetal (LEITE et al., 2011) e extratos obtidos de cogumelos (DI PIERO et al., 2006).

2.1.4.1. Óleo vegetal

Os óleos vegetais representam um dos principais produtos extraídos de plantas, sendo por pressão ou com a utilização de solventes. São constituídos principalmente por triacilgliceróis (≥ 95 %) e pequenas quantidades de di e monoacilgliceróis. Os óleos de sementes utilizados na agricultura podem ser classificados como triglicerídeos e óleos metilados. Os triglicerídeos apresentam um eixo glicerol com três átomos de carbonos e para cada um encontra-se uma molécula distinta de ácido graxo estratificado, e estes geralmente são oléicos e linoléicos. Esses compostos são importantes para manterem o óleo na forma líquida. Quando o óleo é utilizado como adjuvante, encontra-se na forma de metilados. Nesse caso, os ácidos são removidos do esqueleto glicerol durante o processo de estratificação com metil álcool (MENDONÇA, 2003; REDA ; CARNEIRO, 2007; RODRIGUES, 2005).

O óleo vegetal é um surfatante anfótero, pois apresenta carga positiva e negativa, devido à presença da molécula lecitina (fosfatidilcolina) que é capaz de formar em solução aquosa superfícies ativas aniônicas e catiônicas, dependendo do pH. Pode ser classificado como concentrado, quando apresenta de 5 a 20% de surfatante e no mínimo de 80% de óleo vegetal; ou modificado que é o extraído da semente e depois modificado quimicamente (TU ; RANDALL, 2003).

O consumo do óleo vegetal tem aumentado em todo o mundo, e sua produção pode ser obtida através de várias espécies vegetais, como algodão, girassol, canola, colza e

principalmente soja. Em algumas culturas, como o dendê/palma e a mamona, o óleo é o principal produto comercial (NUNES, 2007; OLIVEIRA, 2011).

O óleo vegetal pode ser empregado como espalhante adesivo, no controle de pragas e como adjuvantes. Quando utilizado como adjuvante, apresenta a capacidade de reduzir as perdas causadas por hidrólise da fotodegradação, volatilização, perdas por deriva e lavagem da parte aérea das plantas por águas pluviais, assim como também melhora o desempenho de inseticidas, herbicidas e fungicidas (CORRÊA, 2005).

Segundo Leite et al. (2011) e Silva et al. (2012) o óleo vegetal na dose de 2,5 mL L⁻¹ proporcionou redução de 52% e 76,3% respectivamente, na severidade do míldio da videira expresso em AACDP em relação ao tratamento testemunha em condições de campo. Junqueira et al. (2004) também verificaram que a imersão de mangas em óleo de soja resultou no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz).

2.2. Indução de resistência

Na natureza as plantas desenvolveram vários mecanismos de defesa contra patógenos, dentre esses, está a defesa natural ou resistência pré-formada, que podem ser tanto estruturais, atuando como barreiras físicas, quanto bioquímicas, as quais independem da presença do invasor sobre a planta e atuam através da produção de substâncias tóxicas ou repelentes ao patógeno. Dentro dessa classe, como barreiras estruturais podem ser citadas as ceras, as cutículas, parede celular espessa, tricomas, adaptações dos estômatos e fibras vasculares e como bioquímicas os fenóis, alcalóides, glicosídeos, fitotoxinas, inibidores protéicos e enzimas hidrolíticas. Também se destacam os mecanismos pós-formados que comumente estão em estado latentes, e que podem ser ativados por fatores exógenos bióticos ou abióticos, como também podem aumentar a concentração de compostos pré-existentes após a infecção do patógeno (VIEIRA ; VALLE, 2006; PASCHOLATI et al., 2008; ROMEIRO, 2008; ARAUJO ; MENEZES, 2009).

Estes mecanismos pós-formados de defesa podem desencadear na planta modificações estruturais, como a formação de papila, halo, lignificação, camada de cortiça, formação de tiloses e deposição de goma, ou alterações bioquímicas, como a síntese de fitoalexinas, proteínas relacionadas à patogênese (proteínas-RP) e espécies reativas ao oxigênio (PASCHOLATI et al., 2008; FAULIN, 2010).

Quando uma planta é exposta a um indutor, mecanismos de defesa são ativados, de forma local ou sistêmica na planta. Essa indução pode ser denominada como sistêmica adquirida ou sistêmica induzida, ambas desencadeiam nas plantas fenômenos fenotípicos semelhantes. Quando se refere à resistência adquirida, o principal sinalizador da rota é o ácido salicílico, que espessa principalmente proteínas reativas e quando trata-se do ácido jasmônico e o etileno emprega-se o termo induzido. Apesar, que segundo Pieterse et al. (2005) essas rotas podem se entrecruzar, sendo assim pode-se dizer apenas indução de resistência (MAUCH-MANI ; MÉTRAUX, 1998; BOSTOCK, 2005; BARROS et al., 2010).

A indução pode acontecer de forma não-específica, quando ocorre a ativação de genes que codificam diversas respostas de defesa, e assim a planta, em determinadas condições, torna-se mais resistente a diversos patógenos. Na indução específica, agentes externos, ditos indutores ou elicitores que pode ser o próprio microrganismo ou seus produtos derivados, permitem que a planta fique resistente a patógenos específicos (PASCHOLATI et al., 2008; ARAUJO ; MENEZES, 2009; FAULIN, 2010).

2.2.1. Agentes indutores

A atividade do agente indutor é definida como a capacidade deste em sensibilizar a planta e ativar seus mecanismos de defesa de forma que não apresente efeito tóxico sobre o patógeno, atuando somente como indutor de resistência no vegetal (PASCHOLATI; TOFFANO, 2008; SALGADO et al., 2006).

Quando o controle ocorre via esse mecanismo, encontram-se quase sempre duas características, a amplitude e efetividade, ou seja, a proteção concomitante da planta contra múltiplos patógenos, e a sistemicidade (ROMEIRO ; GARCIA, 2009).

2.2.1.1. Interação elicitor/receptor

Após a aplicação do agente indutor na planta ocorre a ligação ao seu receptor, que geralmente é de natureza protéica e encontra-se na membrana plasmática ou no interior da célula do vegetal. Para que a proteína seja considerada como receptor, ela deve ser capaz de transmitir o sinal que é reconhecido na membrana plasmática ou no citoplasma da célula, como também os sítios de ligações específicos devem se mostrar saturáveis, reversíveis e de

alta afinidade, e capazes de desencadear respostas de defesas. Quando receptores percebem os sinais derivados do patógeno ou do elicitador, desencadeiam alterações no metabolismo celular, como a ativação de proteínas G, aumento do fluxo de íons na membrana plasmática, atividade de quinases e fosfatases e a produção de mensageiros secundários. As proteínas G interagem com o receptor e aumentam a afinidade por GTP (guanina trifosfato), tornando-a ativa; dessa forma, ocorre a sua interação com outras proteínas da membrana celular, principalmente as que funcionam como canais de íons, fosfolipases e fosfodiesterases. Depois da ativação desse complexo, a proteína receptora possui a capacidade de difusão de sinal, induzindo a atividade de proteínas intracelulares específicas (LEITE et al., 1997; CAVALCANTI et al., 2005).

Também quando acontece a interação elicitador/receptor, ocorre abertura de canais iônicos na membrana, que conseqüentemente desencadeia o fluxo de íons, que altera o potencial trans-membrana e ocasiona alcalinização extracelular, devido à entrada de íons H^+ e Ca^{2+} e a saída de K^+ e Cl^- . Com a entrada de Ca^{2+} ocorre a ativação de reações oxidativas que podem agir diretamente na defesa ou sinalizar outras reações (DIXON et al., 1994).

Já a fosforilação de proteínas é considerado o mecanismo chave na sinalização na transdução de sinal dentro da célula. Esse processo ocorrido em quinases leva ao estímulo de uma oxidase de membrana, a qual é envolvida na geração de íons superóxido, que inicia a chamada explosão oxidativa (produção de espécies reativas ao oxigênio - EROs), dentre elas o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), a indicação indireta da transcrição gênica, a biossíntese de ácido jasmônico e/ou etileno e a apoptose (LEITE et al., 1997).

Outros elementos como o ácido salicílico, jasmonatos, etileno, óxido nítrico, quitinases e proteínas fosfatases também auxiliam na transdução de sinais de respostas específicas no interior das células. Já os mensageiros secundários identificados como possíveis mediadores estão o AMP cíclico (cAMP), Ca^{2+} , complexo Ca^{2+} -calmodulina, quinases de proteínas de inositol trifosfato e as EROs (CAVALCANTI et al., 2005).

2.2.2. Principais mecanismos envolvidos na indução de resistência

2.2.2.1. Catalase

As plantas apresentam eficientes mecanismos de detoxicação para eliminar as espécies reativas de oxigênio. Dentre eles, encontra-se a ação de enzimas, como a catalase, que

juntamente com a peroxidase eliminam o H_2O_2 (SCANDALIOS, 1994).

A catalase converte o H_2O_2 em oxigênio e água. Sua principal função é de prevenir os efeitos potencialmente danosos causados por mudanças na homeostase da molécula (VAN BREUSEGEM et al., 2001).

Essas enzimas encontram-se nos peroxissomas e nos glioxossomas. Segundo Willekens et al. (1994) as catalases de classe 1 são comuns em tecidos fotossintéticos e estão envolvidas na remoção de H_2O_2 produzido na fotorrespiração, as de classe 2 são produzidas em grande quantidade nos tecidos vasculares e podem estar relacionadas à lignificação, já as da classe 3 são abundantes em sementes e em plantas jovens e sua atividade está ligada à remoção do excesso de H_2O_2 produzido durante a degradação do ácido graxo.

2.2.2.2. Peroxidase

A peroxidase é uma enzima que está presente em microrganismos, plantas e animais e possui a finalidade de catalisar a oxiredução de hidrogênio e seus redutores. Nas plantas são observadas muitas peroxidases, no entanto algumas são induzidas durante o estresse causado por patógenos (HIRAGA et al., 2001; BALBI-PEÑA, 2010).

Dentre as funções dessa enzima nos tecidos vegetais está a participação na lignificação, suberização e em outros mecanismos da parede celular. A peroxidase permite que ocorra a oxidação desidrogenativa de guaiacol, que resulta na formação de radicais fenoxi, que posteriormente leva à polimerização não enzimática dos monômeros. De forma similar ocorre com o ácido hidroxicinâmico, hidroxicinâmico álcool e seus derivados que também são convertidos em radicais fenoxi. As espécies de hidroxicinâmico álcool são polimerizadas para formar lignina e os ácidos hidroxicinâmicos são incorporados em suverina (HIRAGA, 2001).

A peroxidase também oxida domínios fenólicos e resíduos de tiroxina de proteínas estruturais da parede celular, como glicoproteínas ricas em hidroxiprolina. Essas macromoléculas sofrem ligação cruzada formando moléculas maiores e mais complexas na parede celular e posteriormente, são depositadas na superfície extracelular, fortalecendo assim a parede, restringindo a invasão de patógenos e a expansão celular, contribuindo para o enrijecimento do corpo da planta. Também atuam como mediadores no aumento da produção de EROs, agem como agente antimicrobianos e induzem a produção de fitoalexinas (FRY,

1986; WOJTASZEK, 1997; KAWANO ; MUTO, 2000; HIRAGA, 2001).

A atividade de peroxidase é corriqueiramente analisada para a verificação de indução de resistência, como no trabalho realizado por Campos et al. (2004), que ao avaliar a ação do ácido salicílico e a raça delta de *Colletotrichum lindemuthianum* (fungo indutor) sobre plântulas de feijão contra o patótipo virulento de *C. lindemuthianum*, observaram correlação positiva entre as atividades de peroxidase e da polifenoloxidase, resultando em resistência à antracnose. Vicelli (2008) também observou atividade de ambas as enzimas em feijoeiro quando tratados com extrato de *Pycnoporus sanguineus*.

2.2.2.3. Polifenoloxidase

A maioria das polifenoloxidase permanecem inativas intracelularmente, compartimentalizadas dentro dos tilacoides dos cloroplastos e nos vacúolos. Uma pequena parte também pode ser encontrada na região extracelular da parede (VAUGHN et al., 1988).

Essas enzimas realizam a oxidação do ácido clorogênico, onde os produtos resultantes dessa reação podem atuar de várias formas na defesa das plantas frente aos patógenos. A reatividade de clorogenoquinona pode limitar o desenvolvimento de patógenos nos sítios de infecção por acelerar a taxa de morte celular próxima ao local atacado e/ou gerar um ambiente tóxico ao invasor, inibindo assim o seu desenvolvimento (PETER, 1989). Essa proteína também pode reduzir a biodisponibilidade de proteínas para o patógeno desencadeando a formação de barreiras fenólicas na parede celular (LI ; STEFFENS, 2002).

2.2.3. Mecanismos ativados na planta

Segundo Barros et al. (2010), na indução de resistência, as plantas recebem agressões e através de sua alta capacidade de adaptação permitem a sua sobrevivência, mesmo que muitas vezes passem por prejuízos no desenvolvimento.

Nesse sentido, é verdadeiramente promissora a possibilidade de induzir o sistema de defesa das plantas para ativar rotas metabólicas que resultem em defesas sistêmicas contra fitopatógenos (GOMES et al., 2009).

Dentre essa rotas ativadas estão as espécies reativas ao oxigênio (EROs) que apresentam como função a detoxicação do oxigênio ativo. O oxigênio molecular (O₂)

encontrado nas células, apresenta ausência de reatividade e consequentemente de toxicidade, devido à estabilidade dos elétrons (e^-) da camada externa. Porém e^- perdidos dos transportes ocorridos nos cloroplastos e mitocôndrias podem alterar essa estabilidade do O_2 , tornando-o reativo, ou seja, formando as EROs que podem influenciar os sistemas biológicos (RESENDE et al., 2003).

Pode-se diferenciar três fases na produção de EROs durante a interação patógeno-hospedeiro. Na fase 1 ocorre o reconhecimento dos elicitores provenientes do patógeno, que em seguida dispara os eventos da transdução de sinais, como a redução do O_2 em superóxido (O_2^-) como também abertura dos canais de cálcio (Ca^{2+}). Durante a fase 2 são iniciados os processos relacionados à defesa resultante do reconhecimento ocorrido na fase anterior, nesse momento se incluem o aumento de antioxidantes, como a ação de enzimas, dentre elas a catalase e a peroxidase. O H_2O_2 formado pode ser diretamente tóxico ao patógeno ou estar envolvido no fortalecimento da parede celular através da biossíntese de lignina, atuando como reforço, por meio de ligações cruzadas de proteínas estruturais e fenólicos, comportando-se como uma efetiva barreira física; também atua como mensageiro secundário na cascata de transduções de sinais para a ativação de genes de defesa, que acarreta em reação de hipersensibilidade (HR), produção de fitoalexinas, e resistência sistêmica adquirida (Figura 1). A fase 3 compreende o processo de evolução da patogênese, levando ao desenvolvimento de sintomas visíveis (BAKER & ORLANDI, 1995; RESENDE et al., 2003).

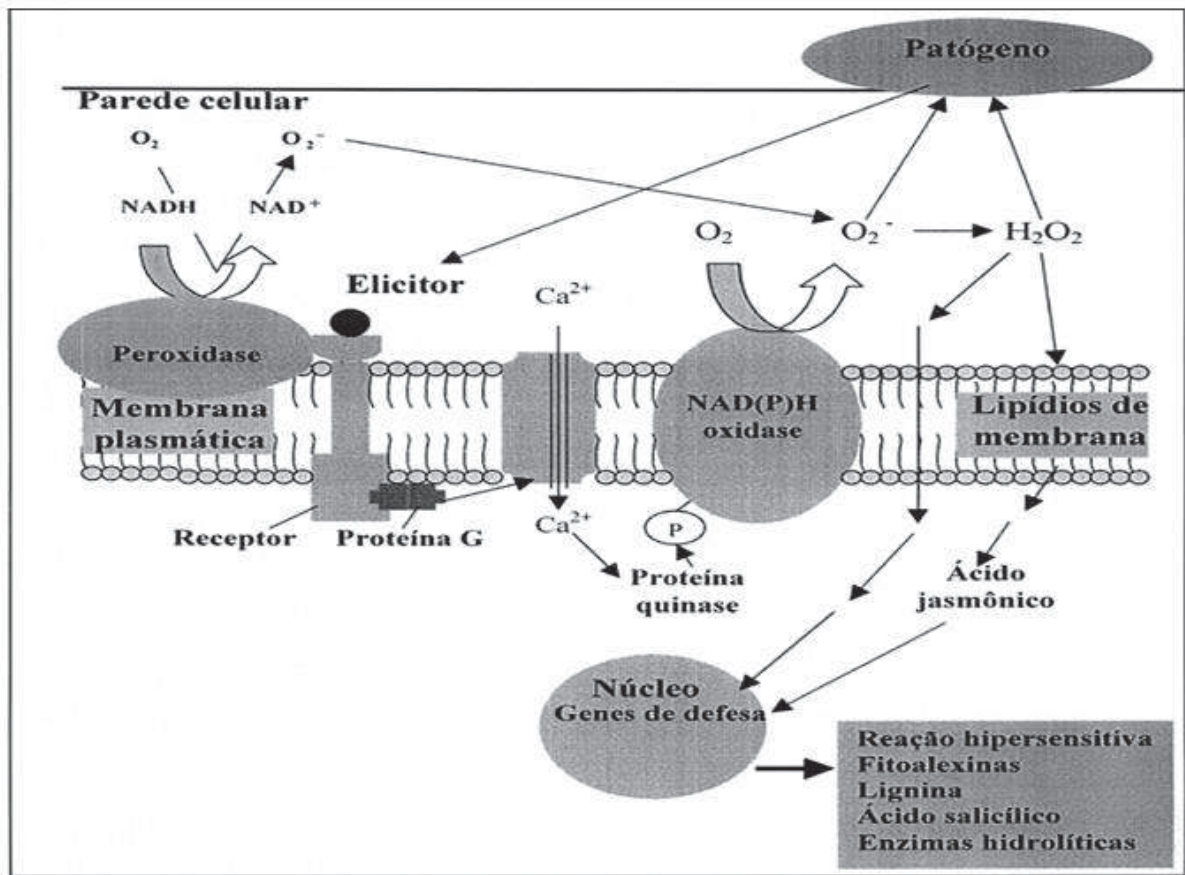


Figura 1: Relação entre ataque de patógeno e mecanismos de defesa de plantas. Adaptado de Taiz & Zeiger (1998) e Dangl et al. (2000).

A ação das EROs foi verificada por Balbi-Peña (2010), que ao investigar a defesa de dois genótipos do gênero *Solanum lycopersicon* com resposta deferencial ao fungo *Oidium neolycoferseci* L. Kiss, verificou que a partir das 24-48 pós-inoculação (hpi) houve acúmulo elevado de H_2O_2 e O_2^- e de células epidérmicas apresentando hipersensibilidade (HR) principalmente em folhas inoculadas com genótipo resistente. Também observou aumento da atividade de peroxidase, catalase, polifenoloxidase, β -1,3- glucanase e quitinase. A associação entre a produção de EROs e a atividade de enzimas relacionadas ao seu metabolismo, enzimas hidrolíticas e do metabolismo de fenóis, assim como HR, são situações evidentes durante as respostas de defesas.

Dessa forma, indutores são testados com intuito de atuarem na atividade dessas enzimas. Dentre os candidatos, está o cogumelo *Agaricus brasiliensis*, que segundo os resultados obtidos por experimentos realizados por Di Piero (2003), demonstraram que extratos aquosos do basidiocarpo de cogumelos, principalmente *A. blazei*, apresentam compostos que ativam as respostas de defesa em plantas e podem também auxiliar no controle

de doenças vegetais, dependendo da natureza do agente causal.

2.3. Cogumelo *Agaricus brasiliensis* na indução de resistência de plantas a patógenos

Dentro da classificação do reino Fungi encontram-se a divisão Basidiomycota, que apresentam como característica principal o basídio, onde são produzidos os basidiósporos e o basidioma. Alguns desses fungos fazem parte do Macromycota, conhecidos como cogumelos, que produzem basidiocarpos carnosos e efêmeros. Dessa forma, o cogumelo *Agaricus brasiliensis*, que inicialmente era conhecido como *Agaricus blazei*, encontra-se nesse grupo, apresentando a seguinte classificação taxonômica: ordem Agaricales, família Agaricomycetidae, tribo Agariceae, seção *Arvensis* e gênero *Agaricus* (CAMELINI et al., 2006; LUZ, 2008; MASSOLA JÚNIOR ; KRUGNER, 2011).

Esses fungos são naturalmente encontrados em regiões serranas da Mata Atlântica do sul do estado de São Paulo. Segundo relatos a espécie foi primeiramente coletada no Brasil, entre as décadas de 60 e 70 (SEBRAE, 2005).

Os cogumelos são considerados alimentos importantes, com potencial benéfico à saúde, por apresentarem baixo teor de gorduras e significativas quantidades de proteínas, fibra alimentar, carboidratos, minerais e vitaminas. Podendo-se dizer que a quantidade de proteínas é quase equivalente ao da carne e acima de alguns vegetais e frutas. Esses macrofungos estimulam o sistema imunológico, são considerados alimentos terapêuticos, utilizados na prevenção de varias doenças humanas, como também indutores de resistência em plantas contra patógenos (BRAGA et al., 1998; SILVA et al., 2007; LIMA, 2009; HELM et al., 2009).

Esses macrofungos são eucariontes, aclorofilados e heterotróficos, que liberam enzimas hidrolíticas capazes de degradação do substrato para absorção de nutrientes, também produzem diversos grupos químicos que podem estar relacionados com a alimentação, pela produção de quelatos, proteção de suas estruturas, síntese de antibióticos, substâncias bacteriostáticas, fungistáticas e nematostáticas, ou ainda compostos sinalizadores que permitem relações interespecíficas (LIMA, 2009; SCHWAN-ESTRADA et al., 2012).

Além dos metabólitos secretados extracelularmente, outras moléculas bioativas como ácidos orgânicos, polissacarídeos, alcalóides, micotoxinas, antibióticos e polissacarídeos presente na parede celular também apresentam atividade antimicrobiana, aumentando assim a

eficiência dos cogumelos (LIMA, 2009). No basidiocarpo e no micélio do cogumelo *A. brasiliensis* também encontram-se substâncias como compostos fenólicos, antibióticos, dentre outras que podem atuar como elicitores com potencial de desencadear na planta o controle de fitopatógenos (SILVA et al., 2007).

Trabalhos estão sendo desenvolvidos com o objetivo de avaliar a ação desses compostos sintetizados por esses fungos com a intenção de induzir a resistência a patógenos em plantas. Como relatado por Vieceli et al. (2009) que testaram o potencial de *Pycnoporus sanguineus* (L. ex Fr) Murr. para ativar enzimas de defesa do feijoeiro contra a mancha angular causada por *Pseudocercospora griseola* (sacc.) Crous ; Braun e verificaram efeito indutor do cogumelo sobre as plantas, promovendo a atividade das enzimas peroxidase e polifenoloxidase. Arruda et al. (2012) verificaram que *Lentinula edodes* e *A. blazei* foram eficientes no controle do oídio (*Erysiphe diffusa*) no soja, induzindo a produção de fitoalexinas. Resultados semelhantes também foram obtidos por Fiori-Tutida et al. (2007), que demonstraram que o extrato de *A. blazei* inibiu a germinação de esporos de *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALARCON, L.C.M.; MICHELLETO, D.; PORTAS, A.A.; BUENO, S.C.S. Implantação do vinhedo. In: BUENO, S.C.S. **Vinhedo Paulista**. 1ª. Ed. Campinas, 2010. p. 55-85.

ARAUJO, F.F. de; MENEZES, D. Indução de resistência a doenças foliares em tomateiro por indutores bióticos (*Bacillus subtilis*) e abióticos (Acibenzolar-S-Metil). **Summa Phytopathologica**, v.35, n.3, p. 169-172, 2009.

ARRUDA, R.S.de; 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, **Bioscience Journal**, v.28, n.2, p.164-172, 2012.

BALBI-PEÑA, M. **Respostas de genótipos de tomate suscetíveis e resistentes a *Oidium neolycopersici* e *Alternaria solani*, localização *in situ* de espécies reativas de oxigênio e atividade de enzimas relacionadas á defesa**, 2010, 190p., Tese (Doutorado em Proteção de Plantas)- Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

BAKER, C.J.; ORLANDI, E.W. Active oxygen in plant pathogenesis, **Annual Review of Phytopathology**, v.33, p.299-321, 1995.

BARROS, F.C.; SAGATA, E.; FERREIRA, L.C.de C.; JULIATTI, F.C. Indução de resistência em planta contra fitopatógeno. **Bioscience Journal**, v.26, n.2, p.231-239, 2010.

BEDENDO, I.P. Míldios. In: AMORIN, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos**. 4.ed. São Paulo: Agronomica Ceres, 2011, p.468-471.

BETTIOL,W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. In: MICHEREFF, S.; BARROS, R. **Proteção de plantas na agricultura sustentável**. 1ª. Ed. Recife-PE, 2001, p.2.

BOSTOCK, R.M. Signal crosstalk and induced resistance: straddling the line between cost and benefit. **Annual Review of Phytopathology**, v.42, p.545-580, 2005.

BRAGA, G.C.; EIRA, A.F.; CELSO, P.G.; COLAUTO, N.B. **Manual do cultivo de *Agaricus blazei* “Cogumelo-do-sol”**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, 1998. 44p.

CAMARGO, A.C. ‘Isabel Precoce’: Alternativa para a viticultura brasileira, Bento Gonçalves-RS: EMBRAPA, 2004.6p. (EMBRAPA. Boletim Técnico, 6).

CAMARGO, U.A.; MAIA, J.D.G.; RITSCHER, P. **Embrapa uva e vinho novas culturas brasileiras de uva**. Embrapa, 2010. 64p.

CAMARGO, U.A.; TONIETTO, J.; HOFFMANN, A. Processos na viticultura brasileira, **Revista Brasileira de Fruticultura**, V.E., p. 144-149, 2011.

CAMELINI, C.M.; MENDONÇA, M. de; DIAS, P.F.; MARASCHIN, M. β -glucanas do cogumelo *Agaricus subrufescens*, análise do rendimento, estrutura química e análise biológica. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v.35, p.36-46, 2006.

CAMPOS, A.D.; FERREIRA, A.G.; HAMPE, M.M.V.; ANTUNES, I.F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E.P. da, OSÓRIO, V.A.; AUSGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão à antracnose. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.39, n.7, 2004.

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

CHAVARRIA, G.; SANTOS, H.P. dos. Manejo de videiras sob cultivo protegido. **Ciência Rural**, v.39, n.9. p.1917-1924, 2009.

CORRÊA, C.M.D. **Efeito do óleo de soja na persistência de endossulfan no ambiente**, 2005, 102 p. Tese (Doutorado em Ecologia de Ecossistema), Escola Superior Luis de Queiros, Piracicaba, SP.

DANGL, J.L.; DIETRICH, R.A.; THOMAS, H. Senescence and programmed cell death. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. **Biochemistry & molecular biology of plants**. Rockville : American Society of Plant Physiologists, 2000.

DI PIERO, R.M. **Potencial dos cogumelos *Lentinula edodes* (shiitake) e *Agaricus blazei* (cogumelo do sol) no controle de doenças em planta de pepino, maracujá e tomate, e a purificação parcial de compostos biologicamente ativos: Indução de resistência em plantas de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pela aplicação de extratos de basidiocarpos de *Lentinula edodes* (cogumelo shiitake) e de *Agaricus blazei* (cogumelo do sol)**. 2003. 171 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Instituto de Fitopatologia, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2003.

DI PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F. Indução de resistência em plantas de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pela aplicação de extratos de basidiocarpo de *Lentinula edodes* e de *Agaricus blazei*. **Summa Phytopathologica**, v.30, n.2, p.243-250, 2004.

DI PIERO, R.M.; WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S.F. Partial purification of elicitors from *Lentinula edodes* basidiocarps protecting cucumber seedlings against *Colletotrichum lagenarium*, **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.175-180, 2006.

DIXON, R.A.; HARRISON M.J.; LAMB C.J. Early events in the activation of plant defenceresponses. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.32, p.479-501, 1994.

FAULIN, M.S.A.R. **Indução de resistência em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*) por acibenzolar-S-metil contra *Xanthomonas axonopodis* pv. *phasioli*: parâmetros bioquímicos e da produção**. 2010.148p. Tese (Doutorado em Ciências. Área de concentração: Fitopatologia)- Universidade de São Paulo- Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba, SP.

FIORI-TUTIDA, A. C. G.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F.; STANGARLIN, J. R.; PASCHOLATI, S. F. Extratos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* sobre *Bipolaris sorokiniana* e *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*, *in vitro*. **Summa Phytopathologica**, v. 33, n. 3, p. 287-289, 2007.

FREIRE, L.M.M.; FREIRE, J.M.; CALDART, V.Z. **Transformação na estrutura produtiva dos viticultores da Serra Gaúcha**. Embrapa, Bento Gonçalves, 1992, 44p. (Embrapa, 7).

FRY, S. C. Cross linking of matrix polymers in the growing cell walls of angiosperms. **Annual Review of Plant Physiology**, Palo Alto, v. 165-186, 1986.

GARRIDO, R.L.; SÔNEGO, R.O. Manejo de Doenças de videira. Cap4. In: NEF/UFLA (org) Manejo integrado de doenças de fruteiras. **Sociedade Brasileira de Fitopatologia**, 2007. Lavras, p.65-86, 2007.

GAVA, C.A.T.; TAVARES, S.C.C. de H., TEIXEIRA, A.H. de C. **Determinação de modelos de associação entre variáveis climáticas e a ocorrência de oídio e mildio da videira no Vale de São Francisco**. Seminário novas perspectivas para o cultivo da uva sem semente...EMBRAPA semi-árido, documento 185, 2004.

GOMES, E.C. de S.; PEREZ, J.O.; BARBOSA, J. Resistência induzida como componente do manejo de doenças da videira. **Engenharia Ambiental**, v.6, n.2 p. 114-120, 2009.

HELM, C.V.; CORADIN, J.H.; KESTRING, D.R. Avaliação da composição química dos cogumelos comestíveis *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Agaricus bisporus portobello*, *Lentinula edodes* e *Pleurotus ostreatus*. Colombo, PR: Embrapa, 2009. 7p. (Embrapa. Comunicado técnico, 235).

HERNANDES, J.L.; MARTINS, F.P. Importância do uso do porta-enxerto na viticultura. In: BUENO, S.C.S. **Vinhedo Paulista**. 1º ed. Campinas, 2010. p. 125-130.

HIRAGA, S.; SASAKI, K.; ITO, H.; OHASHI, Y.; MATSUI, H. A large family of class III plant peroxidases. **Plant and Cell Physiology**, Tokio, v. 42, n. 5, p. 462-468, 2001.

KAWANO, T.; MUTO, S. Mechanism of peroxidase actions for salicylic-acid induced generation of active oxygen species and an increase of cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 51, p. 685-693, 2000.

LEITE, B.; RONCATO, L.D.; PASCHOLATI, S.F.; LAMBAIS, M.R. Reconhecimento e transdução de sinais moleculares em interações planta-fungo fitopatogênico. In: LUZ, C.W.; FERNANDES, J.M.S.; PRESTES, A.M.; PICININI, E.C. **Revisão anual de patologia de plantas**, v.5, p.235-280, 1997.

LEITE, C.D.; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.D.R.; MAIA, A.J. Extrato de alho e óleo vegetal no controle do míldio da videira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.33, n.2, p. 429-436, 2011.

LI, L.; STEFFENS, J. C. Overexpression of polyphenol oxidase in transgenic tomato plants results in enhanced bacterial disease resistance. **Planta**, Berlin, v. 215, p. 239–247, 2002.

LIMA, M.A. de. **Potencial biotecnológico de basidiomicetos isolados no estado do Paraná**. 2009. 122p. Dissertação (Mestrado em saúde animal e humana)- Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

LUZ, W.C.da. Micologia avançada: taxonomia de basidiomicetos, v.1, ed. Revisão anual de patologia de plantas, 2008.

MAIA, J.D.G.; CAMARGO, U.A. Sistema de produção de uvas rústicas para processamento em regiões tropicais do Brasil. 9 ed. EMBRAPA uva e vinho, 2005. p. 1-4.

MASSOLA JÚNIOR, N.S.; KRUGNER, T.L. Fungos fitopatogênicos. In: AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN-FILHO, A. **Manual de Fitopatologia**, 4 ed. rev. São Paulo, 2011.p. 191-192.

MAUCH-MANI, B.; MÉTRAUX, J.P. Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. **Annals of Botany**, v.82, p.535-540, 1998.

MELLO, L.M.R. **Vitivinicultura brasileira: Panorama 2012**, Bento Gonçalves, Embrapa: uva e vinho, 2013 (Embrapa Comunicado Técnico, 137).

MENDONÇA, C.G. de. **Efeito de óleos minerais e vegetais nas propriedades físico-químicas das caldas de pulverização e suas interações com superfícies foliares**. Botucatu: UNESP, 2003, 103 p. Tese (Doutorado em Agronomia), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu, SP.

NAVES, R. de L.; GARRIDO, L. da R.; SÔNEGO, O.R.; KUHN, G.B. **Sistema de produção de uvas rústicas para processamento em regiões tropicais do Brasil**. 9 ed: EMBRAPA uva e vinho, 2005. P.1-8.

NETO, E. **O míldio da videira**. Patação: Estação de Avisos agrícolas de Algaive: 2008. 17 p.(DRAP Algarve. Boletim Técnico, 17).

NUNES, S.P. **Produção e consumo de óleos vegetais no Brasil**. DESER, 2007.10p. (DESER.Boletim eletrônico,10).

OLIVEIRA, R.B.de. **Caracterização funcional de adjuvantes em soluções aquosas**, 2011, 110p. Tese (Doutorado em energia na agricultura). Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho, Botucatu, SP.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba: FEALQ, 2008. 627p.

PASCHOLATI, S.F.; TOFFANO, L. Indução de resistência contra fitopatógenos em espécies arbóreas. In: Anais da III Reunião Brasileira sobre indução de resistência em plantas a patógenos, 59., 2007, Viçosa. **Anais...Viçosa**, 2008.

PERUCH, L.A.M.; MEDEIROS, A.M.de.; BRUNA, E.D.; STADINIK, M. Biomassa cítrica, extrato de algas, calda bordalesa e fosfitos no controle do míldio da videira, cv. Niágara branca. **Revista de ciências Agroveterinárias**, Lages, v.6, n.2, p. 143-148, 2007.

PETER, M. G. Chemical Modifications of Biopolymers by Quinones and Quinone Methides. **Angewandte Chemie International Edition in English**, Weinheim, v. 28, p. 555-570, 1989.

PIETERSE, C.M.J.; VAN PELT, J.A.; VAN WEES, S.C.M.; TON, J.; VERHAVEN, B.W.M.; LEÓN-KLOOTERZIEL, K.; HASE, S.; DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V.; POZO, M.; SPOEL, S.; VANDERENT, S.; KOORNNEEF, A.; CHALFU-JÚNIOR, A.; RESENDE, M.L.V. Indução de resistência sistêmica por rizobactérias e comunicação na rota de sinalização para uma defesa refinada, **Revisão anual de Patologia de Plantas**, Passo Fundo, v.13, p.277-295, 2005.

PINTO, K.M.S. **Resistência sistêmica induzida em videira ‘Isabel’ contra *Plasmopara viticola*: Aspectos epidemiológicos, bioquímico e de maturação**. 2011.77p. Dissertação (Mestrado em Agricultura Tropical)-Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB.

PIRES, E.J.P.; TERRA, M.M.; TECCHIO, M.A.; BOTELHO, R.V.; MOURA, M.F. Doenças da videira. In: BUENO, S.C.S. **Vinhedo Paulista**. 1ªed. Campinas, 2010. p.155-169.

POMMER, C.V.; TERRA, M.M.; PIRES, E.J. Cultivares, melhoramento e fisiologia – Cultivares de videira. Cap. 4 In: POMMER, C.V. Ed. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**/editado por C.V. POMMER. Porto Alegre: Cinco Continentes, p109-294, 2003.

REDA, S.Y.; CARNEIRO, P.I.B. Óleos e gorduras: aplicações e implicações. **Revista Analytica**, n.27, 2007.

RESENDE, M.L.V.; SALGADO, S.M.L. CHAVES, Z.M. Espécies reativas de oxigênio na resposta de defesa de plantas a patógenos, **Fitopatologia brasileira**, v.28, n.2, 2003.

RIBEIRO, I.J.A. Doenças e Nematóides. In: POMMER, C.V. **Uva Tecnologia de Produção, Pós-colheita, Mercado**. Porto Alegre: Cinco Continentes, 2003. p. 525-595.

RODRIGUES, J.D. **Absorção e transporte de substâncias nas plantas**. Departamento de Botanica-Instituto de Biociências-Universidade Estadual Paulista (UNESP), 2005, 90p.

ROMEIRO, R. da S. Indução de resistência em plantas a patógenos. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. **Interação planta-patógeno: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. 3 ed. rev. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz- FEALQ, 2008. p. 411-429.

ROMEIRO, R da S.; GARCIA, F.A.O. Indução de resistência em plantas a patógenos por Elictores de natureza bacteriana. In: BETTIOL, W.; MORANDI, M.A.B. **Biocontrole de doenças de plantas: Uso e perspectivas**. 1 ed.rev. Jaguariúna, 2009. p.85-100.

SALGADO, S.M.de L.; RESENDE, M.L.V.; CAMPOS, V.P. Efeito de indutores de resistência sobre *Meloidogyne exigua* do cafeeiro. **Ciência Agrotecnológica**, Lavras, v.31, n.34, p. 1007-1013, 2006.

SATO, A.J.; ROBERTO, S.R. A viticultura no Paraná. In: I Encontro de fruticultura dos Campos Gerais, 20, 2008, Ponta Grossa. **Anais...Ponta Grossa**: 2008.

SCANDALIOS, J. G. Regulation and properties of plant catalases. In: FOYER, C. H.; MULLINEAUX, P. M. (Eds.). **Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants**. CRC Press, Boca Raton, FL, 1994. p. 275–315.

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: RODRIGUES, F de A.; FORTUNATO, A.A.; RESENDE, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. 22 ed. Universidade Federal de Lavras, 2012, p.9-28.

SEBRAE 2005: Perfil Setorial: Cogumelo do sol. Minas Gerais: 2005. 13p.

SILVA, R.F.; PASCHOLATI, S.F.; BEDENDO, I.P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia Solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, 2007.

SILVA, C.M.; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.D.R. Utilização do extrato aquoso de cinamomo no controle da antracnose da videira. **Summa Phytopathologica**, v.38, n.4, p.312-318, 2012.

SILVA, C.M.; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.D.R. STADLER, T.P. Controle alternativo do míldio da videira com extrato aquoso de cinamomo e óleo vegetal. **Arquivo do Instituto Biológico**, v.79, n.4, p. 587-594, 2012.

SILVA, R.F.; PASCHOLATI, S.F.; BEDENDO, I.P. Indução de resistência em plantas de berinjela por *Lentinula edodes* contra *Ralstonia Solanacearum*: aspectos bioquímicos e biomassa vegetal. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.2, p.137-144, 2008.

SÔNIGO, O.R. **Considerações sobre o controle do míldio da videira**. Embrapa, 1998, 4p. (Embrapa. Boletim técnico, 27).

SÔNEGO, O.R. **Principais doenças fúngicas da videira no Brasil e medidas de controle**. 3.ed. EMBRAPA uva e vinho, 2000.p. 1-5.

SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L. da R.; GRIGOLETTI JUNIOR, A. Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil. **Circular Técnico Embrapa Uva e Vinho**, 2005. Disponível em: <[http:// www.cnpuv.embrapa.br/publica/circular/cir056.pdf](http://www.cnpuv.embrapa.br/publica/circular/cir056.pdf)>. Acesso em: 30/03/2012.

SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L. da R.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Principais doenças fúngicas da videira no Sul do Brasil. Bento Gonçalves. **Circular Técnica**, 56. Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2006. 34p.

SOUZA, R.T.; PALLADINI, L.A. **Sistema de produção de uva de mesa no Norte do Paraná**: Embrapa: Uva e Vinho, 2005 (Embrapa Uva e Vinho, Boletim técnico, 10).

TAVARES, S.C.C.H.; CRUZ, S.C. Doenças causadas por fungos. In: LIMA, M.F.; MOREIRA, W.A. Frutas do Brasil: **Uva de mesa: Fitossanidade**. Brasília, Embrapa informação Tecnológica, p.9-26. 2002.

TU, M.; RANDALL, J.M. Adjuvants. In: TU, M.; HURD, C.; RANDALL, J.M. **Weed control methods handbook the nature conservancy**, p.1-24, 2003.

VAN BREUSEGEM, F.; VRANOVA, E.; DAT, J.F.INZÉ,D. The role of active oxygen species in plant signal transduction. **Plant Science**, Shannon, v. 161, p. 405–414, 2001.

VAUGHN, K. C.; LAX, A. R.; DUKE, S. O. Polyphenol oxidases: the chloroplast oxidase with no established function. **Physiologia Plantarum**, Lund, v. 72 p.659-665, 1988.

VIECELLI, C.A. **Controle da mancha angular e análise bioquímica de resistência em feijoeiro tratado com extratos de *Pycnopus sanguineus***. 2008. 60p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná-UNIOESTE, Marechal Cândido Rondon, 2008.

VIECELI, C.A.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Indução de resistência em feijoeiro por filtrado de cultura de *Pycnopus sanguineus* contra *Pseudocercospora griseola*. **Tropical Plant Pathology**, v.34, n.2, April, 2009.

VIEIRA, D.R.; VALLE, R.R. Indução de resistência sistêmica para o controle da vassoura-de-bruxa *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer em cacauzeiros (*Theobroma cacao* L.) dos clones ICS 1 e CCN51. In. 15º Conferência internacional de pesquisa em cacau, 40, 2006, São José, Costa Rica. **Resumos...**São José, 2006.

WILLEKENS, H.; VILLARROEL, R.; VAN MONTAGU, M. INZÉ, D.; VAN CAMP, W. Molecular identification of catalases from *Nicotianaplumbaginifolia* (L.), **FEBS Letters**, Amsterdam, v. 352, p. 79–83, 1994.

WOJTASZEK, P. Oxidative burst: an early plant response to pathogen infection, **Biochemical Journal**, London, v. 322, p. 681, 1997.

CAPITULO I. ÓLEO DE SOJA NO CONTROLE DO MÍLDIO EM VIDEIRAS cv. ISABEL PRECOCE

RESUMO

Os vinhedos deparam-se corriqueiramente com perdas decorrentes a patógenos, como o oomiceto *Plasmopara viticoala*, agente causal do míldio da videira. Como forma de eliminar ou reduzir impactos causados por produtos sintéticos aplicados à cultura, o objetivo do trabalho foi testar o efeito das doses de 0,05; 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,60 mL L⁻¹ de óleo vegetal (OV) (Natur'1 óleo[®], Stoller, produto comercial, concentração 93%), calda bordalesa 0,6:0,3:100 (cal:sulfato cobre: água) e tratamento testemunha, somente água, *in vitro* e *in vivo* em videiras cv. Isabel Precoce. Foram realizados testes de germinação dos zoósporos de *P. viticola*, efeito das doses sobre a área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio em discos de folhas, em videira sob condições de casa de vegetação e em campo. De acordo com os resultados observou-se que as maiores doses de óleo vegetal reduziram a germinação do patógeno e a eficiência foi diretamente relacionada ao período de contato do produto com os zoósporos. Em discos de folha e em casa de vegetação as doses de 0,40, 0,80 e 1,60 mL L⁻¹ de OV apresentaram efeito significativo na redução da AACPD do míldio. Em condições de campo, a dose 0,10 mL L⁻¹, não se diferiu do tratamento com calda bordalesa no controle do míldio em cv. Isabel Precoce.

Palavras chave: *Vitis labrusca*, *Plasmopara viticola*, Natur'1 óleo[®], manejo de doenças, fitopatógenos.

CHAPTER I. SOYBEAN OIL IN CONTROL OF MILDEW IN VINES cv. ISABEL PRECOCE

ABSTRACT

The vineyards are routinely faced with losses due to pathogens such as the oomycete *Plasmopara viticola*, causal agent of downy mildew. As a way to eliminate or reduce the impacts caused by synthetic products used to culture the objective of this work the effect of doses of 0.005, 0.10, 0.20, 0.40, 0.80 and 1.600 mL L⁻¹ test was vegetable oil (VO) (Natur'l óleo[®], Stoller, commercial product, concentration and manufacturer) bordeaux mixture 0,6:0,3:100 (cal: copper sulfate: water) and control treatment, only water, *in vitro* and *in vivo* grapevine cv. Isabel Precoce. Germination of zoospores of *P. viticola*, the effect of dose on the area under the disease progress (AUDPC) of leaf discs mildew in grapevine under conditions of greenhouse and field tests were performed curve. According to the results showed that larger doses of vegetable oil reduced the germination of the pathogen and efficiency is directly related to the period of contact of the product with the zoospores. In leaf discs and greenhouse doses of 0.40, 0.80 and 1.600 mL L⁻¹ VO showed sgnificativo effect in reducing mildew AUDPC. Under field conditions, the dose 0.10 mL L⁻¹ treatment did not differ from the bordeaux mixture to control mildew cv. Isabel Precoce.

Keywords : *Vitis labrusca*, *Plasmopara viticola*, Natur'l oil [®], disease management , plant pathogens .

1. INTRODUÇÃO

A vitivinicultura apresenta amplo espaço no mercado devido a produção de vinho, destilados alcoólicos, suco e do consumo *in natura* (FERREIRA et al., 2004). Segundo Melo (2013) no ano de 2012, as uvas destinadas ao processamento corresponderam a 57,07% da produção nacional e as utilizadas como uvas de mesas 42,93%.

Um dos fatores limitantes para a indústria de sucos e vinhos, é a falta de cultivares de ciclo curto, que permitiriam a ampliação do período de processamento. Assim, dentre as cultivares que respondem a essa condição, destaca-se a Isabel Precoce (CAMARGO et al., 2010).

Embora essa cultivar responda às exigências de produtividade, depara-se com alguns entraves, como a ocorrência de fitopatógenos que acarretam em perdas qualitativas e quantitativas, como também demanda altos custos nas medidas de controle. Dentre esses microrganismos destaca-se o agente causal do míldio, o oomiceto *Plasmopara viticola* Berl. ; De Tony (POMMER et al., 2003; SÔNEGO et al., 2006).

Esse patógeno causa sérios prejuízos por infectar todos os órgãos verdes da planta, em especial as folhas. Com isso, acaba reduzindo a área fotossintética ativa da planta, resultando em queda da produtividade (TAVARES ; CRUZ, 2002; NETO, 2008).

Utilizam-se basicamente para o controle do míldio fungicidas sintéticos. Esse procedimento desencadeia problemas de resistência do patógeno, fitotoxidez, poluição ambiental, causa contaminação dos produtos derivados da uva. Por estes motivos, pesquisas tem testado substâncias que apresentem atividades fungistáticas e/ou fungitóxicas que possam substituir ou diminuir o uso de fungicidas pulverizados nos parreirais (PERUCH et al., 2007; ROSE et al., 2009).

Dentre essas substâncias encontram-se os óleos extraídos de sementes de plantas que podem apresentar ação fitossanitária (CÔRREA, 2005). Leite et al. (2011) testaram extrato de alho e o óleo vegetal de soja na dose de 2,5 mL L⁻¹ sobre fitopatógenos da videira cv. Isabel e observaram que o óleo apresentou efeito no controle da antracnose e do míldio, reduzindo a germinação de *Elsinoe ampelina* (de Bary) Schear e de *P. viticola*, como também verificaram, que em campo, esse subproduto vegetal proporcionou redução de 52% da área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) em relação ao tratamento testemunha. Junqueira et al. (2004) realizaram a imersão de mangas em óleo vegetal e obtiveram como resultado

aumento do tempo de prateleira da fruta como também eficácia no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz).

Nesse sentido, o objetivo do trabalho foi verificar o efeito de doses do óleo de soja agrícola sobre *Plasmopara viticola*, em condições de laboratório, casa de vegetação e campo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento

Os experimentos foram conduzidos na Universidade Estadual do Centro-Oeste-UNICENTRO no departamento de Agronomia, Campus CEDETEG, em condições de laboratório, casa de vegetação e campo.

2.2. Efeito do óleo vegetal na germinação de *Plasmopara viticola*

Folhas de videira, com sintomas típicos de míldio foram coletadas no pomar da instituição. Para a liberação dos esporângios, adicionou-se sobre as folhas 100 mL de água destilada esterilizada com 20 µL de Tween 80 e com alça de Drigalski realizou-se um esfregaço sobre o mofo branco, que conseqüentemente ocasionou a liberação dos esporângios, seguida de uma padronização da suspensão à 1×10^6 esporângios mL⁻¹ com contagem em câmara de Neubauer (hemocitômetro).

Os tratamentos foram constituídos pelas doses de 0,05; 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,60 mL L⁻¹ de óleo de soja emulsionável (Natur'1 óleo[®], Stoller, produto comercial, concentração 93%), tratamento padrão com calda bordalesa 0,6: 0,3:100 (cal:sulfato cobre: água) e testemunha somente água.

Alíquotas de 40 µL da suspensão de esporos e outra de 40 µL da solução de cada um dos tratamentos foram colocadas em cavidades individuais de placas de teste de ELISA (RESENDE et al., 1997).

Em seguida, as placas foram mantidas em câmara de crescimento a $25 \pm 1^\circ\text{C}$ no escuro, cada uma correspondendo ao período de 2, 4, 6, 12 e 24 horas. Para a paralisação da germinação dos esporângios nos períodos pré estabelecidos, adicionou-se 20 µL do corante azul algodão de lactofenol em cada cavidade. Avaliou-se a porcentagem de esporângios germinados, observados aleatoriamente com auxílio do microscópico óptico de objetiva invertida, totalizando quatro repetições. Foram considerados esporângios germinados os que nitidamente apresentavam a liberação dos zoósporos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito tratamentos e quatro repetições.

2.3. Efeito do óleo vegetal em discos de folha de videira (*Vitis labrusca*) cv. Isabel Precoce

Discos de folhas sadias de videira cv. Isabel Precoce, com 5 cm de diâmetro, foram desinfestadas superficialmente com hipoclorito de sódio a 2% por 5 segundos e secos a temperatura ambiente. Posteriormente mergulhados por 1 min. nos seguintes tratamentos: 0,10; 0,20; 0,40; 0,80; 1,60 ml L⁻¹ de óleo vegetal emulsionável (Natur'1 óleo[®], Stoller, produto comercial, concentração 93%, óleo de soja) calda bordalesa 0,6: 0,3: 100 (cal: sulfato cobre: água) e tratamento testemunha somente água. Em seguida, os discos foram distribuídos sobre espuma umedecida contidas em bandejas cobertas com saco plástico, para a manutenção da umidade, e armazenadas em câmara de crescimento (BOD) a 25±1°C, com fotoperíodo de 12h.

Transcorridas 24 h, inoculou-se suspensão de 1x10⁴ esporângios mL⁻¹ de água de *P.viticola* sobre os discos de folha, seguida da re-incubação na câmara de crescimento por oito dias. Diariamente se avaliou a severidade do míldio de acordo com a escala diagramática proposta por Azevedo (1997) (Anexo).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com oito tratamentos e cinco repetições com seis discos. Os dados de severidade (% de área lesionada) foram transformados em área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

2.4. Efeito do óleo vegetal em videira (*Vitis labrusca*) cv. Isabel Precoce em condições de casa de vegetação em Guarapuava-PR

Mudas de videira cv. Isabel Precoce (*Vitis labrusca*) enxertadas sobre o porta-enxerto 'Paulsen 1103', foram plantadas em 23/10/2012 em vasos com capacidade de 1 L, e preenchidos em substrato comercial (Plantmax[®], composto por casca de árvore) e acondicionadas em casa de vegetação sob irrigação por aspersão. Após a brotação das primeiras folhas as videiras foram tratadas com o pulverizador verizador com dois bicos ajustados em garrafa pet, até o ponto de escorrimento, as doses de 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,60 mL⁻¹ de óleo de soja emulsionável (Natur'1 óleo[®]) calda bordalesa 0,6: 0,3: 100 (cal: sulfato cobre: água) e tratamento testemunha somente água a cada 15 dias. Foram realizadas 5 aplicações dos tratamentos, em seguida a inoculação do patógeno e posteriormente mais 2 pulverizações. Estas aplicações foram realizadas no período de 24/10/12 a 16/01/13.

Em 26/12/12, foi realizada a inoculação de *P. viticola* e sete dias depois se iniciaram as avaliações de severidade (% de área lesionada), segundo a escala de Azevedo (1997) (Anexo), em 5 folhas previamente identificadas, em cada planta. Esses dados foram transformados em área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL; MEDDEN, 1990).

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com oito tratamentos e seis repetições, sendo cada vaso uma parcela experimental.

2.5. Efeito do óleo vegetal em videiras (*Vitis labrusca*) cv. Isabel Precoce em condições de campo em Guarapuava-PR

Mudas de videira cv. Isabel Precoce, enxertadas sobre 'Paulsen, conduzidas em espaldeira, com espaçamento de 1,2 x 2,5m, foram plantadas dia 23/10/12, em Guarapuava-Pr com coordenadas geográficas de 25°21'xx''S, 51°30'xx''O e a 1100 m de altitude, em solo classificado como latossolo bruno distroférico de textura argilosa e clima dito CBF subtropical mesotérmico úmido, conforme classificação de Koppén (1948).

Em condições de campo não foi realizada a inoculação do patógeno, pois devido às condições favoráveis ocorreu a manifestação natural da doença. Os tratamentos consistiram da pulverização quinzenal de 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,60 mL L⁻¹ de óleo de soja emulsionável (Natur'1 óleo[®]), calda bordalesa 0,6: 0,3: 100 (cal: sulfato cobre: água) e tratamento testemunha somente com água. As aplicações foram realizadas com pulverizador manual, iniciando-se por ocasião da brotação das primeiras folhas, no período de 17/10/12 à 30/01/13.

Quando os primeiros sintomas da doença foram observados, 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 cinco avaliações, no período de 02/01/13 a 30/01/13, em 5 folhas pré marcadas de cada planta.

2.6. Análises estatísticas

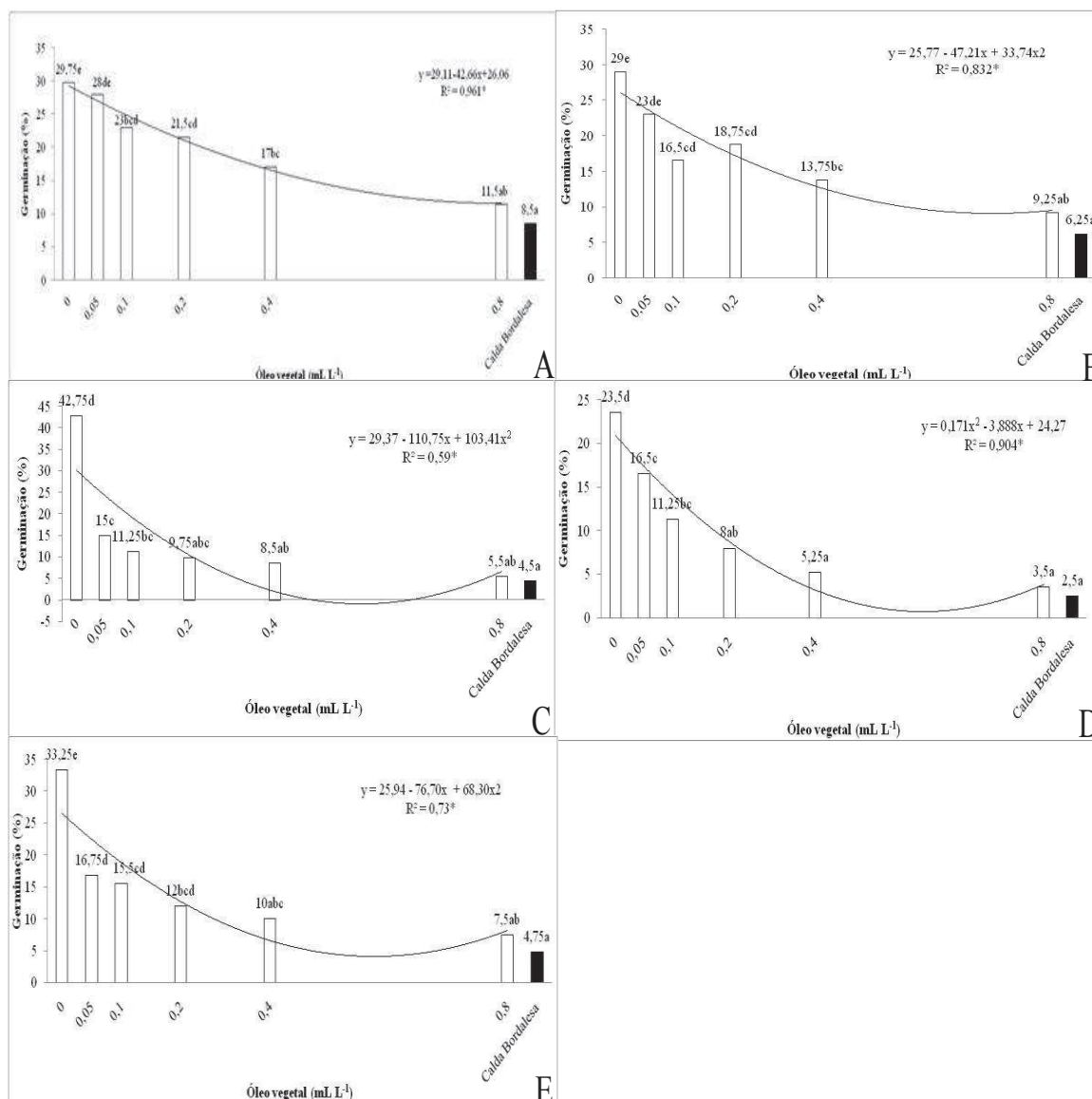
Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e, quando significativo realizou-se a regressão polinomial e comparação de médias pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade através do programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2011).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeito do óleo vegetal na germinação de *Plasmopara viticola*

Para todos os períodos de avaliação, houve efeito quadrático para a germinação de *P. viticola* em função das doses de OV. A maior dose de 0,80 mL L⁻¹ de OV reduziu em 60, 68, 87, 87 e 75,5% a germinação do patógeno da videira após 2, 4, 6, 12 e 24h de incubação, respectivamente, quando comparado com o tratamento testemunha. Além disso, essa dose não se diferiu estatisticamente do tratamento com calda bordalesa que reduziu em mais de 70% a germinação dos esporângios em todos os períodos (Figura 2).

As doses de OV testadas proporcionaram redução da germinação dos esporângios de *P. viticola*, desde o período de 2h, podendo ser ressaltado que quanto maior o tempo de contado do produto com os esporângios, menor a sua germinação (Figura 2).



*significativo estatisticamente a 5% de probabilidade

Figura 2: Germinação de esporângios de *Plasmopara viticola* submetidos às doses de 0,05; 0,10; 0,20; 0,40 e 0,80 ml L⁻¹ de óleo vegetal de soja emulsionável e os tratamentos testemunha somente água e padrão com calda bordalesa, nos períodos de: (A) 2h; (B) 4h; (C) 6h; (D) 12h e (E) 24h (Guarapuava-PR, 2014).

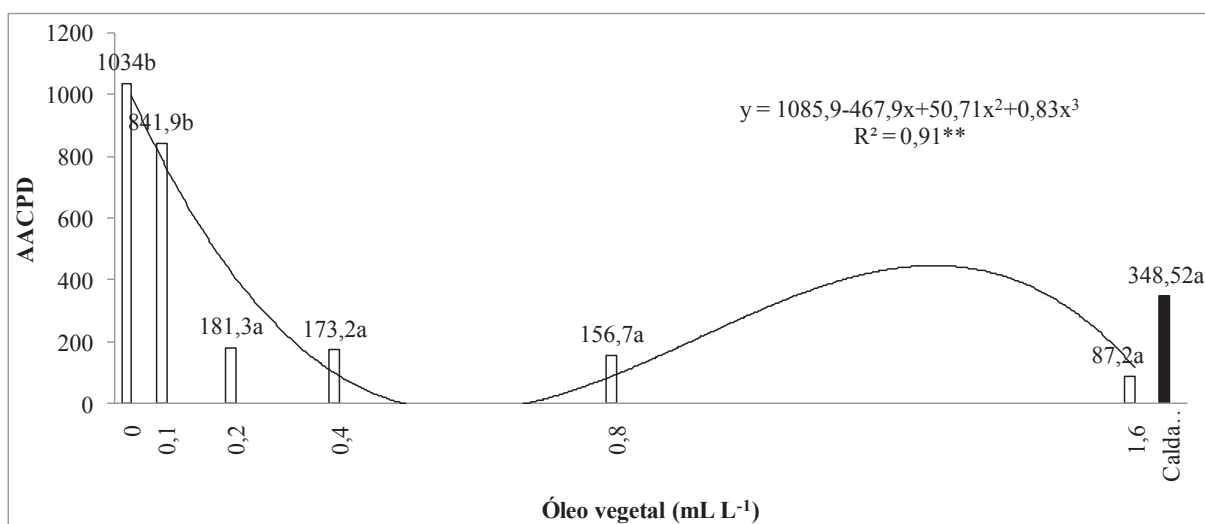
O efeito fungitóxico que o OV apresentou sobre a germinação de *P. viticola* pode estar relacionado com a sua composição de até 57% de ácido linoleico (KITAMURA, 1984). Esse ácido graxo é encontrado em altos níveis em plantas de milho resistentes a patógenos causadores de grãos ardidos (*Fusarium verticilloides*, *Diplodia macrospora* (*Stenocarpella maydis*), *Diplodia macrospora* (*Stenocarpella macrospora*), pois quando ocorre a oxigenação, através da enzima lipogenase, aldeídos voláteis são liberados e impedem o desenvolvimento do patógeno. Esse fato, provavelmente foi responsável pela inibição da germinação de *P. viticola* (ZERINGUE et al., 1996)

O óleo vegetal também apresentou efeito fungitóxico sobre *Elsinoe ampelina*, como relatado por Souza et al. (2012), que ao testarem diferentes doses desse composto sobre o agente causal da antracnose da videira observaram redução no índice de velocidade do crescimento micelial do patógeno, em função do aumento da dose, obtendo redução de 31% com 0,80 ml L⁻¹ de óleo vegetal.

Takano et al. (2007) observaram que as concentrações de 100 e 300 mL L⁻¹ do detergente derivado do óleo de mamona (*Ricinus communis*), apresentaram efeito fungitóxico sobre o *Fusarium graminearum*, reduzindo em 100% a germinação dos conídios do patógeno e inibiram o crescimento micelial de *Colletotricum lendemuthianum*, sendo essa redução diretamente relacionado ao aumento da concentração dos tratamentos.

3.2. Efeito do óleo vegetal em discos de folha de videira (*Vitis labrusca*) cv. Isabel Precoce

Os resultados de discos de folha de videira inoculados com *P. viticola* e tratados com as doses de OV, foram semelhantes aos obtidos *in vitro*, pois com o aumento da dose ocorreu redução na área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD), sendo que as doses de 0,2; 0,40; 0,80 e 1,60 ml L⁻¹ do OV, reduziram estes valores em 82,5%, 83,3%, 84,9% e 91,60%, respectivamente, em relação a testemunha, enquanto que o tratamento com calda bordalesa reduziu em 66,4% a AACPD (Figura 3).



**significativo estatisticamente a 5% de probabilidade

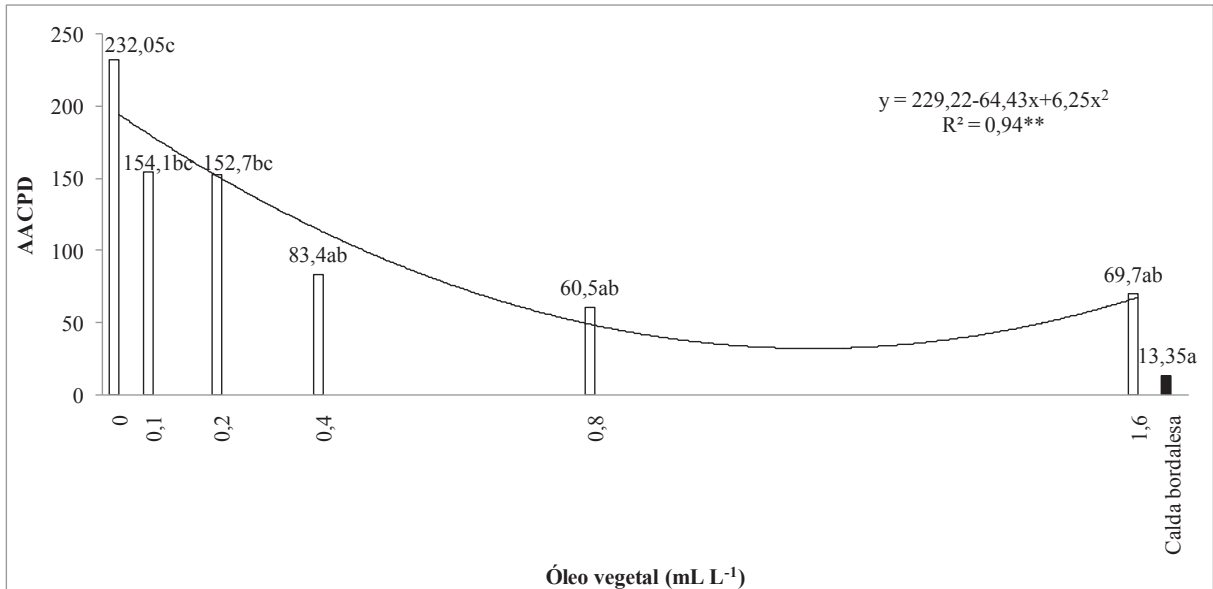
Figura 3: Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio em discos de folha de videira cv. Isabel Precoce tratadas com as doses de 0,10; 0,20; 0,40 e 0,80 mL L⁻¹ de óleo vegetal de soja emulsionável, tratamento testemunha (somente água) e calda bordalesa (Guarapuava-PR, 2014).

Resultados semelhantes foram verificados por Junqueira et al. (2003 a) em que o óleo vegetal de soja isolado ou em associação com fungicidas aumentou o tempo de prateleira de mangas cv. Palmer e mostrou-se eficiente no controle da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) dos frutos. Junqueira et al. (2003b) também constataram em bananas, que os tratamentos com adjuvantes a base de óleo de soja testados foram altamente eficientes no controle da antracnose (*Colletotrichum musae*) e retardaram o amadurecimento dos frutos.

Por outro lado, Rosa et al.(2008), ao avaliarem o efeito de produtos alternativos e comerciais para o controle do míldio da videira. Os pesquisadores observaram que a associação de Agro-mos+Crop-sete+óleo de nim e o óleo de nim com fungicida reduziram a severidade da doença em apenas 17,39% e 16,15% respectivamente, quando comparados ao tratamento testemunha, somente com água.

3.3. Efeito do óleo vegetal em videiras (*Vitis labrusca*) cv. Isabel Precoce em condições de casa de vegetação em Guarapuava-PR

Em casa de vegetação, observou-se efeito quadrático em função das doses de óleo vegetal de soja, sendo que os tratamentos com 0,40; 0,80 e 1,60 mL L⁻¹ de OV reduziram a AACPD do míldio em 64%, 74%, e 70%, respectivamente, e não diferindo do tratamento padrão com calda bordalesa que promoveu redução de 94% na AACPD, quando comparado ao tratamento testemunha (Figura 4).



**significativo estatisticamente a 5% de probabilidade

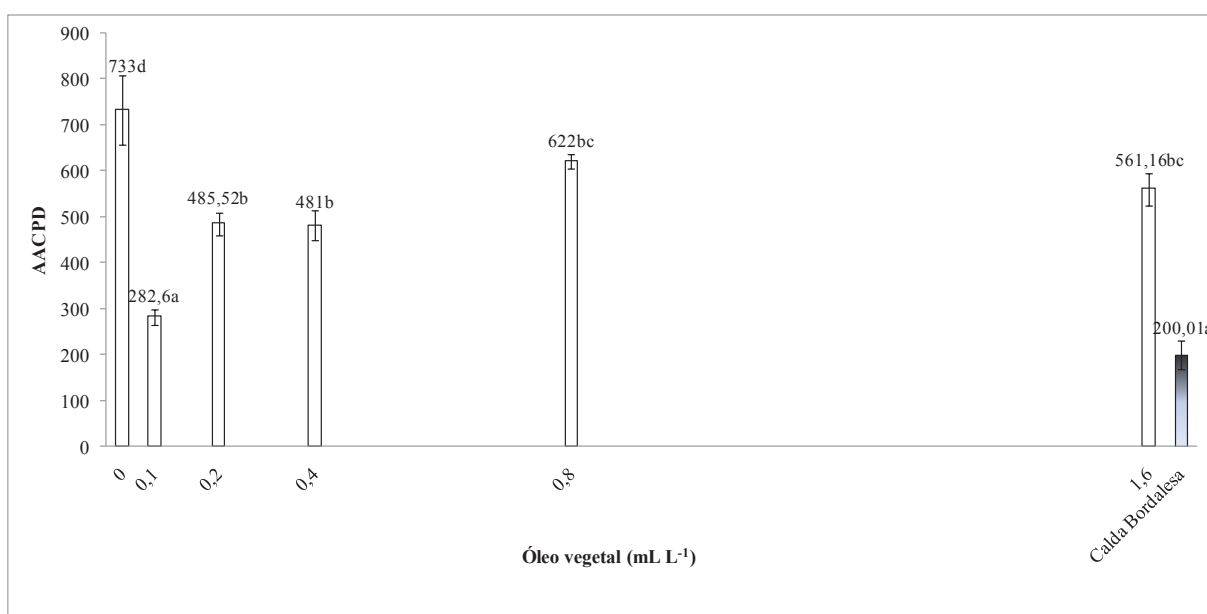
Figura 4: Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio em videiras cv. Isabel Precoce em condições de casa de vegetação, tratadas com as doses de 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,6 mL L⁻¹ de óleo vegetal de soja (Guarapuava-PR, 2014).

Resultados semelhantes foram relatados por Agrios (2005) que verificou a eficiência de óleos de soja, girassol, oliva e milho no controle do oídio em macieira, com pulverização realizada um dia antes da inoculação de *Podosphaera leucotricha*. Carneiro et al. (2007) em condições de casa de vegetação, realizaram uma aplicação preventiva de óleo de nim em plantas de feijão 6 horas antes da inoculação de *Erysiphe polygoni*, agente causal do oídio, e observaram que o óleo foi eficiente no controle da doença, reduzindo em até 65% o número de lesões nas folhas. Doses de 5, 10 e 15 mL L⁻¹ desse mesmo óleo mostraram-se eficientes no controle da mancha angular do feijoeiro (*Phaeoariopsis griseola*) quando pulverizadas 48, 24 e 2 horas antes da inoculação do patógeno, mas somente a dose 10 mL L⁻¹ controlou a doença quando aplicada depois da inoculação (CARNEIRO et al., 2008).

Amandioha ; Obi (1998) verificaram que a aplicação de extratos de óleo de nim em feijão caupi (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) apresentou efeito fungitóxico superior ao fungicida benomyl sobre as lesões causadas por antracnose (*Colletotrichum lindemuthianum*).

3.4. Efeito do óleo vegetal em videiras cv. Isabel Precoce no controle de *Plasmopara viticola* em condições de campo

Para a AACPD do míldio da videira não houve regressão polinomial em função das doses de OV. No entanto, observou-se que a dose de 0,10 mL L⁻¹ de OV mostrou-se estatisticamente semelhante ao tratamento com calda bordalesa em condições de campo (Figura 5).



*Barras verticais representam o desvio padrão (N=5)

Figura 5: Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio da videira cv. Isabel Precoce em condições de campo, tratadas com as doses de 0,10; 0,20; 0,40; 0,80 e 1,6 mL L⁻¹ de óleo vegetal de soja (Guarapuava, 2014). Números seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Pode-se verificar que os resultados de AACPD não foram tão expressivos como em condições de laboratório e em casa de vegetação. Possivelmente esse fato está relacionado com as pulverizações quinzenais. Aplicações realizadas em intervalos menores poderiam apresentar melhor efetividade do óleo vegetal de soja no controle do míldio da videira.

Silva et al. (2012a) observaram que em campo o extrato de cinamomo nas concentrações de 30, 40 e 50 ml L⁻¹ acrescidos com 2,5 mL L⁻¹ de OV, apresentaram decréscimo do míldio da videira de aproximadamente 26,0%, 34,0% e 31,0% respectivamente, e que os tratamentos utilizados não diferiram estatisticamente da calda

bordalesa e da testemunha, como também verificaram que no segundo ano de experimento a aplicação isolada do OV proporcionou redução de 76,3% na AACPD do míldio em relação a testemunha absoluta. Para o controle da antracnose da videira (*Elsinoe ampelina*) o OV utilizado como adjuvante mascarou o efeito desse extrato, proporcionando redução de 64,0% na AACPD (SILVA et al., 2012b). Leite et al. (2009) verificaram que as doses 20 e 25 mL L⁻¹ de extrato de alho acrescidas com 2,5 mL L⁻¹ de OV diminuíram em 83,59% e 72,28% a severidade da antracnose da videira, quando comparadas com o tratamento testemunha.

Carneiro (2003) observou que as concentrações de 0,25%, 0,5%, 1% e 2% de óleo emulsionável de nim (*Azadirachta indica*) mostrou-se eficiente no controle do oídio do tomate, ressaltando que os tratamentos mantiveram a porcentagem da área foliar afetada igual ou abaixo de 1% com 2 pulverizações em 7 dias.

Dias-Arieira et al. (2010) ao utilizarem as doses de 0%; 0,25%; 0,5%; 1,0% e 1,5% de óleo de *Eucalyptus citriodora* e de *Azadirachta indica* (óleo de nim) para o controle da flor-preta da cultura do morango verificaram que a dose 0,5% de óleo de nim reduziu o abortamento de flores inoculadas com *Colletotrichum acutatum*, como também os frutos que resultaram das flores inoculadas apresentaram redução significativa da doença quando tratados com as dose 0,5 e 1,0% desse óleo.

Baptista et al. (2009) em trabalho realizado com tomate para o controle de doenças foliares como pinta-preta (*Alternaria solani*), septoriose (*Septoria lycopersici*) e mancha bacteriana (*Xanthomonas* spp.) verificaram alta eficiência da calda bordalesa em todo o ciclo da cultura, porém o óleo de nim reduziu a severidade das doenças apenas no início do ciclo e o óleo de alho não apresentou nenhum controle.

4. CONCLUSÕES

- Os tratamentos com óleo vegetal reduziram a germinação do *Plasmopara viticola*, quanto maior a doses do produto e o período de contato com o patógeno, menor a germinação;
- Em disco de folha e em videiras em casa de vegetação as doses de 0,40, 0,80 e 1,60 mL L⁻¹ de óleo vegetal a AACPD do míldio em videira cv. Isabel Precoce;
- Em campo a dose 0,10 mL L⁻¹ de óleo vegetal mostrou-se estatisticamente semelhante a calda bordalesa para o controle do míldio da videira.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGRIOS, G.N. **Plant pathology**. 5 ed. London: Elsevier Academic Press, 2005, 952p.
- AMANDIOHA, A.C.; Obi, V.I. Fungitoxic Activity of Extracts from *Azadirachta indica* and *Xylopiya aethiopia* on *Colletotrichum lindemuthianum* in Cowpea, **Journal Herbs, Spices ; Medicinal Plants**, v.6,n.2, 1998.
- AZEVEDO, L.A.S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: Novartis, 1997, 114p.
- BAPTISTA, M.J.; RESENDE, F.V.; OLIVEIRA, A.R. Uso de óleos vegetais de alho e nim no controle de doenças foliares em tomateiro sob sistema orgânico de produção. **Revista brasileira de agroecologia**, v.4, n.2, 2009.
- CAMARGO, U.A.; MAIA, J.D.G.; RITSCHER, P. **Embrapa uva e vinho novas cultivares brasileiras de uva**, Embrapa, 2010, 64p.
- CAMPBELL, C.L.; MADDEN, L.V. (Ed.). Introduction to plant disease epidemiology. NY: **Wiley**, New York, 532p., 1990.
- CARNEIRO, S.M de T.P.G. Efeito de extratos de folhas e do óleo de nim sobre o oídio do tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v.29, n.3, 2003.
- CARNEIRO, S.M. de T.P.G.; PIGNONI, E.; GOMES, J.C. Efeito do nim (*Azadirachta indica* A. Juss) no controle da mancha angular do feijoeiro, **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.10, n.3, p.6-10, 2008.
- CARNEIRO, S.M.deT.P.G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M.E.doC.; GOMES, J.C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro, **Summa Phytopathologica**, v.33, n.1, p.34-39, 2007.
- CÔRREA, C.M.D. **Efeito do óleo de soja na persistência de endosulfan no ambiente**. Piracicaba: USP, 2005, 102p. Tese (Doutorado em Ecologia do Ecosistema), Escola Superior Luis de Queiroz, Piracicaba, SP.
- DIAS-ARIEIRA, C.R.; FERREIRA, L. da R.; ARIEIRA, J de O.; MIGUEL, E.G.; DONEGA, M.A.; RIBEIRO, R.C.F. Atividade do óleo de *Eucalyptus citrodora* e *Azadirachta indica* no controle de *Colletotrichum acutatum* em morangueiro. **Summa phytopathologica**, v.36, n.3, p.228-232, 2010.
- FERREIRA, D.F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p.1039-1042, 2011.

FERREIRA, M.A.; PEDRO JÚNIOR, M.J.; SANTOS, A.O.; HERNANDES, J.L. Modificação parcial do ambiente de cultivo da videira ‘Cabernet Sauvignon’ sobre diferentes porta-enxertos: efeito sobre a produção e o teor de sólidos solúveis, **Bragantia**, v.63, p.439-445, 2004.

JUNQUEIRA, N.T.V.; SILVA, A.P. de O.; MISAEL, L.P.; LAGE, D.A. da C.; SILVA, D.M.; FIALHO, J. de F.; JUNQUEIRA, L.P. **Potencial de defensivos biológicos no controle da antracnose e na conservação de bananas em pós-colheita**. Planaltina-DF Embrapa, 2003. 14p. (Embrapa: Boletim de pesquisa e desenvolvimento 94)b.

JUNQUEIRA, N.T.V.; NASCIMENTO, A.C.do; RAMOS, V.H.V.; LAGE, D.A.da A. **Efeito de produtos biológico e químicos no controle da antracnose e na conservação da manga cv. Palmer em pós- colheita**. Planaltina-DF Embrapa, 2003. 14p. (Embrapa: Boletim de pesquisa e desenvolvimento 95)a.

JUNQUEIRA, N.T.V.; CHAVES, R. da C.; NASCIMENTO, A.C. do; RAMOS, V.H.V.; PEIXOTO, J.R.; JUNQUEIRA, L.R. Efeito de óleo de soja no controle da antracnose e na conservação da manga cv. Palmer em pós-colheita. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.26, n.2, p.222-225, 2004.

KITAMURA, K. Biochemical of lipoxigenase lacking mutants, L1-Less, L-2 Less and L-3Less soybeans. **Agricultural and Biological Chemistry**, v.48, n.9, p.2339-2346, 1984.

KÖPPEN, W. **Climatologia: com um estudio de los climas de La tierra**. México: Fondo de Cultura Econômica, 1948. 478p.

LEITE, C.D.; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.D.R.; MAIA, A.J. Efeito do extrato de alho sobre agentes causais da antracnose (*Elsinoe ampelina*) e da escoriose (*Phomopsis viticola*) da videira. **Revista brasileira de agroecologia**, v.4, n.2, 2009.

LEITE, C.D.; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.D.R.; MAIA, A.J. Extrato de alho e óleo vegetal no controle do míldio da videira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal-SP, v.33, n.2, p.429-436, Junho 2011.

MELLO, L.M.R. **Viticultura Brasileira: Panorama 2012**. Embrapa, 2013, 5p. (Embrapa, Comunicado Técnico, 137).

NETO, E.O. **O míldio da videira**. Patação: Estação de Avisos Agrícolas de Algarve: 2008, 17p. (DRAP Algarve, Boletim Técnico, 17).

PERUCH, L.A.M., MEDEIROS, A.M. de; BRUNA, E.D.; STADINIK, K.M. Biomassa cítrica, extrato de algas, calda bordalesa e fosfitos no controle do míldio da videira cv. Niógara branca. **Revista de ciências agroveterinárias**, Lages, v.6, n.2, p.143-148, 2007.

POMMER, C.V; TERRA, M.M.; PIREZ E.J. Cultivares, melhoramento e fisiologia- Cultivares de videira. Cap.4 In: POMMER, C.V. Ed. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**, Porto Alegre: Cinco Continentes, p. 109-294, 2003.

SILVA, C.M. da; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.R.D.; STADLER, T.P. Controle alternativo do míldio da videira com extrato aquoso de cinamomo e óleo vegetal. **Arquivo do Instituto Biológico**, São Paulo, v.79, n.4, p. 587-594, out./dez., 2012a.

SILVA, C.M. da; BOTELHO, R.V.; FARIA, C.M.R.D. Utilização do extrato aquoso de cinamomo no controle da antracnose da videira. **Summa phytopathologica**, v.38, n.4, p.312-318, 2012b.

SÔNEGO, O.R.; GARRIDO, L. da R.; GRIGOLETTI JÚNIOR, A. Principais doenças fúngicas da videira do sil do Brasil. Bento Gonçalves. **Circular Técnica**, 56, Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2006, 34p.

SOUZA, K.C. de; GARCIA, C.; LEITE, C.D.; FARIA, C.M.D.R.; BOTELHO, R.V. Influencia de óleo vegetal no crescimento micelial de *Elsinoe ampelina* agente causal da antracnose da videira (*Vitis* sp.). In.1º Congresso do Setor de Ciências Agrárias e Ambientais da Unicentro: Sustentabilidade e sociedade do conhecimento, 1., 2012, Guarapuava. **Resumos...** Guarapuava, 2012.

RESENDE, M.C.; OLIVA, C.R.; FELDMAN, M.L.; CASTAGNARO, A.P.; CANAL, L. A sunflower leaf antifungal peptide activa against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Physiologia Plantarum**. 100: 178-182, 1997.

ROSA, R.C.Tda; CAVALCANTI, V.A.L.B.; COELHO, R.S.B.; PAIVA, J.do E. da. Efeito de produtos alternativos e de fungicidas no controle do míldio da videira. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.334, n.3, p.256-258, 2008.

ROSE, G.; LANE, S.; JORDAN, R. The fate of fungicide and insecticide residues in Australian wine grape by-products following field application. **Food Chemistry**, v. 117, n. 4, p. 634-640, 2009.

TAKANO, E.H.; BUSSO, C.; GONÇALVES, E.A.L.; CHIERICE, C.O.; CANTANZARO-GUIMARÃES, S.A.; CASTRO-PRADO, M.A.A.de. Inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos por detergentes derivados de óleo de mamona (*Ricinus communis*), **Ciência Rural**, v.37, n.5, 2007.

TAVARES, S.C.C.H.; CRUZ, S.C. da. Doenças causadas por fungos. In: LIMA M.F.; MEREIRA, W.A. **Frutas do Brasil: Uva de mesa: Fitossanidade**, Brasília, Embrapa infomação tecnológica, p.9-26, 2002.

ZERINGUE, H. J.; BROWN, R. L.; NEUCERE, J. N. Relationship between C6-C12 alkanal and alkenal volatile contents and resistance of maize genotypes to *Aspergillus flavus* and aflatoxin production. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v.44, p.403-407, 1996.

CAPITULO II. EFEITO DA SUSPENSÃO MICELIADA AQUOSA DE *Agaricus brasiliensis* NO CONTROLE E NA INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA DE VIDEIRAS cv. ISABEL PRECOCE CONTRA O MÍLDIO (*Plasmopara viticola*)

RESUMO

Os produtos químicos utilizados no controle das principais doenças da videira causam impactos ambientais, além de seleção de patógenos resistentes aos princípios ativos e contaminação dos produtos. Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da suspensão miceliada aquosa (SMA) de *Agaricus brasiliensis* no controle do míldio e seu efeito na indução de resistência da videira cv. Isabel Precoce. Os tratamentos consistiram das doses de 1, 5, 10, 15 e 20% da suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*, tratamento padrão com o acibenzolar-S-metil (ASM) e a testemunha absoluta (sem tratamento). Foram realizados o teste de germinação *in vitro* do patógeno *Plasmopara viticola*, e *in vivo* em casa de vegetação, com uma única aplicação dos tratamentos e inoculação do patógeno 24 horas após pulverização. Discos de folhas foram coletados aos 6, 12, 24, 48, 72 e 96h após a aplicação dos tratamentos. Nesses discos coletados foram realizadas análises da atividade das enzimas catalase (CAT), peroxidase (POX) e polifenoloxidase (PFO). Pelos resultados obtidos, verificou-se que os tratamentos reduziram a germinação dos esporângios de *Plasmopara viticola*, porém não apresentaram efeito significativo na área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio em condições de casa de vegetação. Em alguns períodos a CAT apresentou redução para os tratamentos das doses, a POX apresentou maior atividade em 48, 72 e 96h após aplicação dos tratamentos e a PFO não apresentou efeito significativo em função das doses. Os tratamentos não foram efetivos no controle do míldio da videira cv. Isabel Precoce, também não induziram a PPO, porém alteraram a atividade da CAT e induziram a POX.

Palavras chave: *Vitis labrusca*, cogumelo, elicitor.

CHAPTER II. EFFECT OF AQUEOUS SUSPENSION MICELIADA *Agaricus brasiliensis* IN CONTROL AND INDUCTION OF RESISTANCE OF VINES cv. ISABEL PRECOCE AGAINST POWDERY MILDEW (*Plasmopara viticola*)

ABSTRACT

The chemicals used in the control of major diseases of the vine cause environmental impacts, and selection of resistant pathogens active ingredients and product contamination. In this sense, the present study aimed to evaluate the effect of aqueous suspension miceliada (ASM) of *Agaricus brasiliensis* in control of mildew and its effect on the induction of resistance of grapevine cv. Isabel Precoce. The treatments consisted of the doses of 1, 5, 10, 15 and 20% of the aqueous suspension miceliada *Agaricus brasiliensis*, standard treatment acibenzolar-S-methyl (ASM) and the control treatment (no treatment). Testing in vitro germination of the pathogen *Plasmopara viticola*, and in vivo in a greenhouse, with a single application of treatment and pathogen inoculation 24 hours after spraying were performed. Leaf discs were collected at 6, 12, 24, 48, 72 and 96h after treatment application. These discs listed analyzes the activity of catalase (CAT), peroxidase (POX) and polyphenol oxidase (PPO) were performed. The results obtained showed that the treatments reduced germination of sporangia of *Plasmopara viticola*, but no significant effect on the area under the disease progress (AUDPC) of downy mildew in greenhouse conditions curve. In some periods the CAT decreased doses for treatment, the POX was most active at 48, 72 and 96h after treatment application and PFO had no significant effect depending on the dose. The treatments were not effective in controlling downy mildew of grapevine cv. Isabel Precoce, also did not induce PPO, but increased the activity of CAT and POX induced.

Keywords: *Vitis labrusca*, mushroom, elicitor.

1. INTRODUÇÃO

O cultivo da videira se expande por diversas regiões do mundo. No Brasil, por apresentar fatores climáticos favoráveis a essa cultura, a produção se estende desde o extremo sul até o nordeste (ALARCON et al., 2010; POMMER et al., 2003).

O setor vitícola brasileiro é composto basicamente por uvas finas, americanas e híbridas, para o consumo *in natura*, uvas para a elaboração de vinhos finos, e uvas americanas e híbridas para a produção de vinhos de mesa e sucos. Dentre as cultivares utilizadas para a fabricação desse produto, destaca-se a Isabel Precoce, por apresentar ciclo curto, uva tinta, rústica e fértil (CAMARGO et al., 2010).

Porém, essa cultura apresenta algumas limitações que influenciam na produtividade. Dentre essas estão as doenças causadas por fitopatógenos, como o oomiceto *Plasmopara viticola*, causador do míldio da videira, que pode acarretar em perdas de até 100% na produção. Para que ocorra o desenvolvimento dessa doença é necessário ambiente favorável, como temperaturas de 20 à 25°C e umidade relativa do ar em torno de 90 à 95%. O patógeno afeta todos os órgãos verdes da planta, sendo que os sintomas característicos e principais para a identificação ocorrem nas folhas, podendo ser observado na parte adaxial manchas amareladas, ditas como “manchas de óleo” e na porção abaxial a presença de mofo branco. Como danos, observam-se desfolha precoce, que diminui a área fotossintética ativa da planta e reduz a deposição de açúcares nos frutos, as bagas ficam escuras, duras e deprimidas que com o desenvolvimento da doença acabam caindo e as ráquis ficam escuras em seguida secam e por fim ocorre a queda dos botões florais (GARRIDO ; SÔNEGO, 2003; NEVES et al., 2005).

Para o controle dessa doença são utilizados basicamente produtos sintéticos, que acarretam em vários impactos ambientais e seleção de patógenos cada vez mais resistentes. Como forma de eliminar ou ao menos diminuir esses problemas, tem-se buscado tecnologias de produções menos agressivas ao homem e ao meio ambiente, buscando-se assim medidas alternativas aos agrotóxicos, como compostos ativos presentes em cogumelos, com capacidade de induzir a resistência das plantas contra fitopatógenos (WORDELL FILHO et al., 2007; SCHWAN-ESTRADA et al., 2012).

Dentre esses cogumelos utilizados como indutores de resistência está o *Agaricus brasiliensis*, que possui compostos bioativos que podem agir como antibióticos, substâncias bacteriostáticas, fungistáticas e nematostáticas (SCHWAN-ESTRADA et al., 2012). Fiori-Tutida (2003) verificaram que extratos de *Leninula edodes* e *A. blazei* atuaram como elicitores de respostas de defesas, verificando que esses cogumelos estimularam a produção de fitoalexinas em soja e sorgo, como também induzem a produção de β -1,3-glucanase e peroxidase em trigo e ativaram rotas metabólicas para a formação de papilas em mesocótilos de sorgo. Também foram observados efeitos fungitóxicos *in vitro* desses macrofungos sobre a germinação de esporos de *Puccinia recondita* f.sp. *tritici* (FIORI-TUTIDA et al., 2007).

Porém Silva et al. (2008) não observaram efeito inibitório *in vitro* dos extratos de basidiomas de *A. blazei* e *L. edodes* sobre *Ralstonia solanacearum*, agente causal da murcha bacteriana em berinjela, mas verificaram ações elicitoras dos tratamentos na resistência desta solanácea.

Diante desse contexto, o presente trabalho apresentou como objetivo verificar o efeito da suspensão miceliada do cogumelo *A. brasiliensis* no controle do míldio da videira (*P. viticola*) cv. Isabel Precoce, como também sua capacidade de indutor de resistência nessas plantas contra esse fitopatógeno.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Local do experimento

Os testes *in vitro* foram realizados no laboratório de Fitopatologia e os *in vivo* em casa de vegetação, ambos presentes no departamento de Agronomia da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO).

2.2. Obtenção do *A. brasiliensis*

O cogumelo *A. brasiliensis* está depositado na micoteca do laboratório de bioprocessos de Cogumelos-DEALI-UNICENTRO. Esse fungo foi isolado a partir do corpo de frutificação de uma cultura comercial.

2.2.1. Manutenção e repique do *A. brasiliensis*

A cepa do cogumelo foi preservada tubo-a-tubo em meio batata dextrose ágar (BDA), com repicagem trimestral. O micélio do cogumelo foi repicado em placas de Petri contendo BDA e incubado a 30°C durante 10-15 dias.

2.2.1.1. Preparo do inóculo do *A. brasiliensis*

O inóculo foi repicado em Erlenmeyers contendo meio Padrão composto de (g L⁻¹): glicose (20), extrato de levedura (3,95), MgSO₄.7H₂O (0,3), e K₂HPO₄.3H₂O (0,5); com pH ajustado a 6,0 (±0,2) em potenciômetro com NaOH 0,1N, esterilizados a 121°C por 15 min (LEIFA et al., 2003). Foram inoculados cinco pedaços (1cm²) de ágar com micélio do cogumelo em 50 mL de meiopadrão e incubados a 30°C a 120 rpm por 7 dias. O micélio foi separado do caldo por filtração em tela (malha de 0,5 mm²) dividido em duas partes. Uma parte foi passada através da tela com auxílio de uma espátula com 50 mL de água destilada esterilizada. Esta suspensão de micélio foi usada na concentração de 5% (v/v) para produção de micélio por cultivo submerso e para inocular o substrato sólido.

2.2.2. Obtenção da suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis*

Após o descongelamento, pesou-se o micélio de *A. brasiliensis* (com umidade de 94%), referente a cada dose determinada para os experimentos, seguida de maceração mecânica em almofariz. Posteriormente, foi adicionada água destilada e trituração em liquidificador, para se obter maior efetividade da extração dos compostos bioativos presentes no cogumelo.

2.3. Efeito da suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis* no controle de *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio da videira cv. Isabel Precoce

2.3.1. Avaliação da germinação *in vitro* de esporângio de *P. viticola*.

Folhas de videira, com sintomas típicos de míldio foram coletadas no pomar da instituição. Para a liberação dos esporângios, adicionou-se sobre as folhas 100 mL de água destilada esterilizada com 20 µL de Tween 80 e com alça de Drigalski realizou-se um esfregaço sobre o mofo branco, que conseqüentemente ocasionou a liberação dos esporângios, seguida de uma padronização da suspensão à 1×10^6 esporângios mL⁻¹ com contagem em câmara de Neubauer (hemocitômetro).

Os tratamentos testados no controle da germinação desses esporângios foram doses de 1, 5, 10, 15 e 20% da SMA de *A. brasiliensis* (essas doses correspondem a 0,06, 0,3, 0,6, 0,9 e 1,2% de peso seco de *A. brasiliensis*), como tratamento padrão foi utilizado o indutor de resistência acibenzolar-S-metil (ASM) (0,005% diluído em água) e testemunha absoluta (sem tratamento).

Alíquotas de 40 µL da suspensão do patógeno e outra de 40 µL dos tratamentos em dosagem dobrada (pois ocorre diluição das doses na presença da suspensão do patógeno) foram colocadas em cavidades individuais de placas de teste de ELISA (RESENDE et al., 1997).

Em seguida, as placas foram mantidas em câmara de crescimento a 25°C no escuro, cada uma correspondendo ao período de 2, 4, 6, 12 e 24 horas. Para que ocorresse o processo de paralisação da germinação dos esporângios foram adicionados 20 µL do corante azul algodão de lactofenol em cada cavidade, no horário previsto para avaliação. Posteriormente

avaliou-se a porcentagem de esporângios germinados, observados aleatoriamente com auxílio do microscópio óptico de objetiva invertida, totalizando cinco repetições. Foram considerados esporângios germinados aqueles que apresentam liberação dos zoósporos.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com sete tratamentos e cinco repetições. Os dados foram submetidos à análise da variância pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade, através do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2011).

2.3.2. Avaliação em condições de casa de vegetação com plantas envasadas

Mudas de videira cv. Isabel Precoce enxertadas sobre porta-enxerto 'Paulsen 1103, foram plantadas dia 23/01/13 em vasos com capacidade de 1L contendo substrato comercial (Plantmax composto por casca de árvore) e mantidas em casa de vegetação, sob irrigação por aspersão.

O delineamento experimental foi em blocos ao acaso com sete tratamentos e seis repetições, e parcela experimental constituído por uma planta. No estádio v8 realizou-se a aplicação dos tratamentos nas videiras com pulverizador manual, até o ponto de escorrimento com as doses de 1, 5, 10, 15 e 20% de SMA de *A. brasiliensis*, além de um tratamento padrão com o indutor de resistência comercial acibenzolar-S-metil (ASM) a 0,005% e testemunha (sem tratamento). Após 24h das aplicações dos produtos, foi realizada a inoculação do patógeno com suspensão de 1×10^4 esporângios mL⁻¹ em todas as folhas das mudas de videira. Decorridos 14 dias observou-se os primeiros sintomas da doença, quando se iniciou as avaliações da severidade da doença, segundo a escala diagramática proposta por Azevedo (1997) (Anexo). Estas avaliações foram realizadas a cada três dias, totalizando cinco avaliações, posteriormente os dados foram transformados em área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) (CAMPBELL; MADDEN, 1990).

2.4. Efeito da suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis* na indução de resistência de videira cv. Isabel Precoce contra o míldio (*P. viticola*)

2.4.1. Coleta e armazenagem das amostras de videira (*Vitis labrusca*) após serem tratadas com a suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis*

Discos de folhas com aproximadamente 5 cm de diâmetro foram coletados aleatoriamente nas mudas de videira cv. Isabel Precoce, nos períodos de 2, 6, 12, 24, 48, 72 e 96h após a aplicação dos tratamentos.

As amostras foliares foram protegidas com papel alumínio, resfriadas em gelo e posteriormente armazenadas em freezer a -80°C, até o preparo de extratos para as análises bioquímicas.

2.4.1.1. Preparo dos extratos de discos de folhas de videira cv. Isabel Precoce para análises enzimáticas

Os discos de folhas foram pesados e em seguida macerados em almofariz com nitrogênio líquido e homogeneizados mecanicamente com 1% (p/p) de PVP (polivinilpirrolidona) e 4 mL de tampão fosfato de potássio 50mM (pH 7,0) contendo 0,1 mM EDTA. Posteriormente a solução foi centrifugada a 15.000 g durante 40 min a 4 °C, sendo o sobrenadante obtido considerado como extrato enzimático, o qual foi armazenado a -80 °C, até a realização das análises (KAR ; MISHRA, 1976).

A partir desses extratos determinou-se o conteúdo protéico, catalase, peroxidase e polifenoloxidase.

2.4.1.2. Proteína Total

Para a determinação do conteúdo protéico segundo Bradford (1976) para cada 50 µL do extrato enzimático foi adicionado, sob agitação, 2,5 mL do reagente de Bradford. Após 5 min foi efetuada a leitura da absorbância a 595 nm em espectrofotômetro. A concentração de proteínas, expressa em mg por mL de amostra (mg proteína.mL⁻¹), foi determinada utilizando-se curva-padrão de concentrações de albumina de soro bovino (ASB) de 0 a 0,5 mg. mL⁻¹, obtida pelo método de Bradford $y = -0,0456 + 0,733x$.

2.4.1.3. Catalase

A atividade da catalase (CAT) (EC 1.11.1.60) foi quantificada e adaptada do método de Góth (1991), modificado por Tomanková et al. (2006), através do complexo estável

formado pelo molibdato de amônio com peróxido de hidrogênio. O extrato enzimático (0,1 mL) foi incubado em banho Maria a 38°C juntamente com 0,5 mL da mistura de reação contendo 60 mM de peróxido de hidrogênio em tampão fosfato de potássio 60 mM pH 7,4 por 2 min. Após esse período adicionou-se 0,5 mL de molibdato de amônio (32,4 mM) para deter o consumo de peróxido de hidrogênio pela enzima presente no extrato. Foi preparado um branco para cada amostra através da adição de molibdato de amônio à mistura de reação, omitindo o período de incubação. O complexo amarelo de molibdato e peróxido de hidrogênio foram medidos a 405 nm. A diferença entre a absorbância do branco e a amostra incubada indicou a quantidade de peróxido de hidrogênio utilizado pela enzima. A concentração de H₂O₂, foi determinada utilizando-se o coeficiente de extinção $\epsilon = 0,0655 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

2.4.1.4. Peroxidase

A atividade da peroxidase de guaiacol (POX) (EC 1.11.1.7) foi determinada a 30 °C, através de método espectrofotométrico direto, pela medida da conversão do guaiacol em tetraguaiacol em 470 nm (LUSSO ; PASCHOLATI, 1999). A mistura da reação continha 1 mL do extrato enzimático e 2,0 mL de solução com 250 µL de guaiacol e 306 µL de peróxido de hidrogênio em 100 mL de tampão fosfato 0,01M (pH 6,0). A cubeta de referência continha 3 mL da solução de guaiacol e peróxido de hidrogênio em tampão fosfato. A atividade da peroxidase foi determinada por um período de 2 min., e utilizou-se a média dos valores da leitura que apresentaram no mínimo três pontos crescentes, obtendo assim uma reta. Os resultados foram expressos em absorbância.min⁻¹.mg⁻¹ de proteína.

2.4.1.5. Polifenoloxidase

A determinação da atividade enzimática de polifeniloxidase (PPO) (EC 1.10.3.1) foi efetuada com base no método descrito por Duangmal ; Apenten (1999), que utiliza o catecol como substrato para a formação quinonas. Utilizou-se o substrato catecol à 20mM dissolvido em 100mM de fosfato de potássio (pH 6,8). A reação ocorreu no espectrofotômetro, com comprimento de onda em 420 nm, pela adição de 900 µL de substrato e 100 µL de extrato para a enzima que se encontravam a 30°C. Para a determinação da atividade enzimática as

leituras ocorreram por 2 min., utilizando-se assim, a média dos valores, de no mínimo, três pontos crescentes. Os resultados foram expressos na absorvância.min⁻¹.mg de proteína.

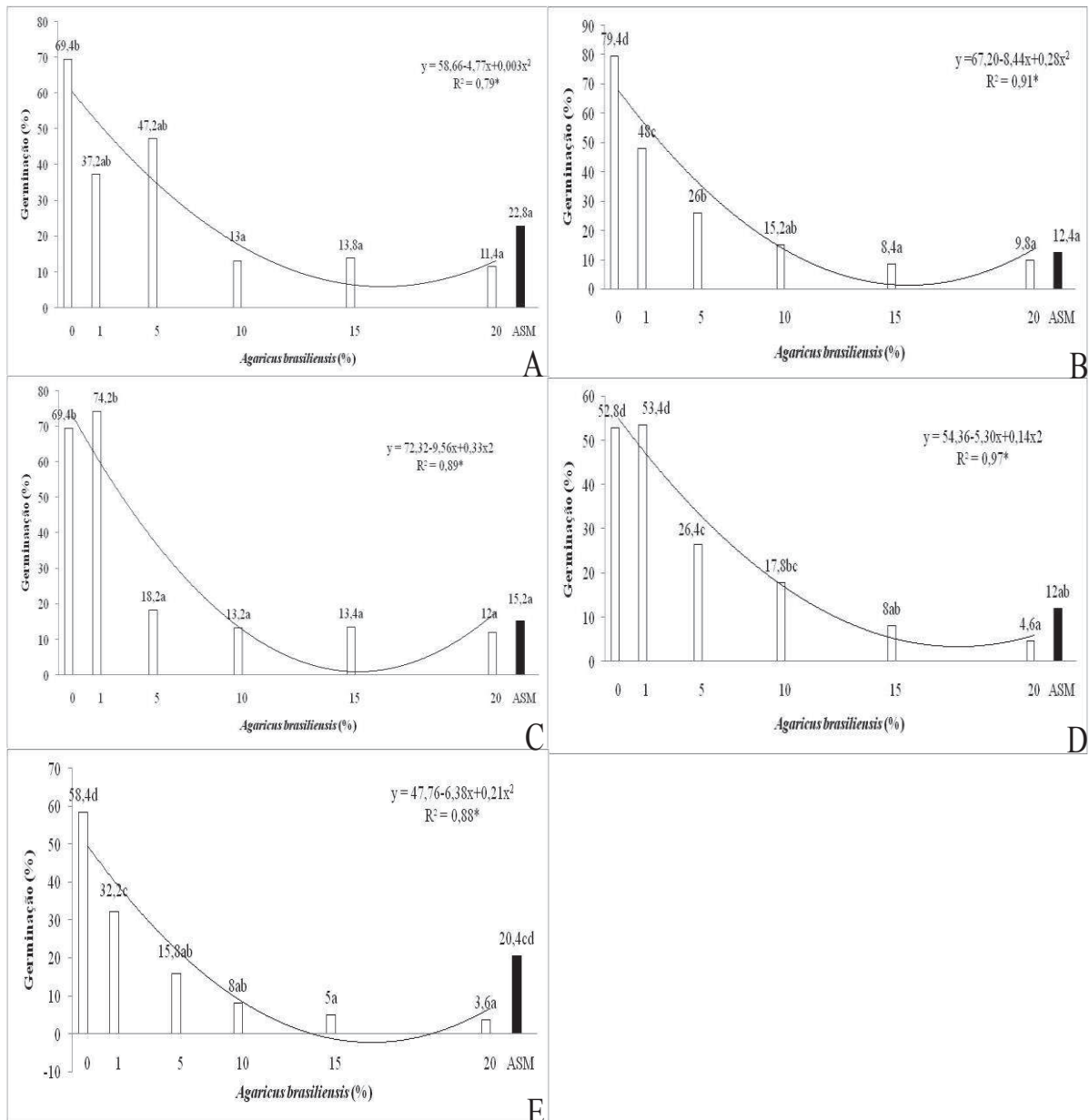
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Efeito da suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis* no controle de *Plasmopara viticola*, agente causal do míldio da videira cv. Isabel Precoce

3.1.1. Na germinação, *in vitro*, de esporângios de *P. viticola*.

Para a germinação dos esporângios de *P. viticola*, houve efeito quadrático em função das doses da SMA de *A. brasiliensis* em todos os períodos de avaliação. Constatou-se que essa suspensão pode apresentar compostos bioativos que interferiram na germinação de *P. viticola*, pois quanto maior a dose e o período de incubação menor a germinação dos esporângios, podendo também ser ressaltado que a suspensão mostrou-se mais efetiva que o tratamento padrão (Acibenzolar-S-metil) no período de 24 h (Figura 6).

As doses 10, 15 e 20% de SMA de *A. brasiliensis* diminuíram acima de 80% a germinação dos esporângios de *P. viticola*, nos períodos de 2, 4, 6 e 24h, sendo que em 12h a redução foi de 66%, 85% e 91%, respectivamente. Pode-se ressaltar que o tratamento com 1% da suspensão induziram em 107% e 101% a germinação do patógeno, em 6 h e 12 h de incubação, quando comparados com o tratamento testemunha (Figura 6).



*significativo estatisticamente a 5% de probabilidade

Figura 6: Germinação de esporângios de *Plasmopara viticola* submetidos às doses de 1; 5; 10; 15; 20% suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*, testemunha absoluta (somente água) e tratamento padrão acizenzolar-S-metil (0,005%). Nos períodos de: (A) 2h; (B) 4h; (C) 6h; (D) 12h e (E) 24h, após a aplicação dos tratamentos (Guarapuava-PR, 2014).

De acordo com os resultados obtidos, observou-se que a SMA de *A. brasiliensis* apresenta substâncias que interferem na germinação de *P. viticola*, essa afirmação é confirmada por Stangarlin et al. (2011) que ressaltam que os cogumelos possuem compostos fenólicos que podem ter ação antibacteriana, antivirótica e fungitóxica, porém o efeito inibitório no crescimento micelial, germinação de esporos e produção/ atividade de enzimas microbianas podem variar de acordo com a espécie. Tsai et al. (2007) também comprovam que os

compostos fenólicos presentes em cogumelos, como o *A. blazei* podem variar entre 5,67-5,81 mg g⁻¹ dependendo da espécie e da forma de extração. Baseando-se nesses fatos, pode-se dizer que as doses utilizados nos tratamentos e a tipo de extração da SMA possivelmente apresentavam uma concentração de compostos fenólicos que mostraram-se fungitóxicas ao agente causal do míldio da videira, porém nos períodos de 6h e 12h na dose de 1% esses compostos foram insuficientes para reduzir a germinação do patógeno.

Diferenças foram relatadas no efeito de inibição de extratos brutos, obtidos a partir do pó seco do basidiocarpo de *A. blazei* e de *L. edodes* na germinação de esporos de *B. sorokiniana* e *P. recôndita* (agentes causais da mancha marron e da ferrugem da folha da cultura do trigo, respectivamente) por Fiori-Tutida et al. (2007). Estes autores verificaram maior efetividade de controle dos extratos sobre o patógeno biotrófico, (*P. recontida*), observando redução de 52,4% na germinação dos esporos.

Piccinin et al. (2010) observaram que o filtrado do crescimento micelial de *L. edodes* inibiu o crescimento micelial de *Exserohilum turcicum*, agente causal da helmintosporiose do sorgo, de forma semelhante aos das preparações obtidas a partir do basidiocarpo, no entanto não apresentou efeito sobre o *Colletotrichum sublineolum* (agente causal da antracnose do sorgo). Isso mostra que os patógenos apresentam diferenças na sensibilidade quanto aos compostos antimicrobianos presentes nos cogumelos. Os autores também relataram que a concentração de 2% (v/v) obtida do basidiocarpo do cogumelo reduziu significativamente a germinação dos esporos de ambos os patógenos. Por outro lado, Camili et al. (2009) verificaram que os extratos brutos de *A. blazei* e *L. edodes* estimularam a germinação de conídios de *Botrytis cineria*, após 8h de aplicação das doses de 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 e 40,0% dos tratamentos. Além disso, os extratos aquosos desses cogumelos não apresentaram efeito inibitório direto no crescimento da bactéria *Ralstonia solanacearum* (Smith) (SILVA et al., 2007).

Os extratos de basidiocarpo de *L. edodes* e principalmente *A. blazei* também estimularam a germinação *in vitro* de *Colletotrichum lagenarium*, assim como aumentaram o comprimento do tubo germinativo desses esporos e reduziram a formação de apressórios. Esses resultados podem ser consequência de que, a quantidade de nutrientes disponíveis pelos extratos é maior do que a dos compostos com ação antifúngica (DI PIERO, 2003).

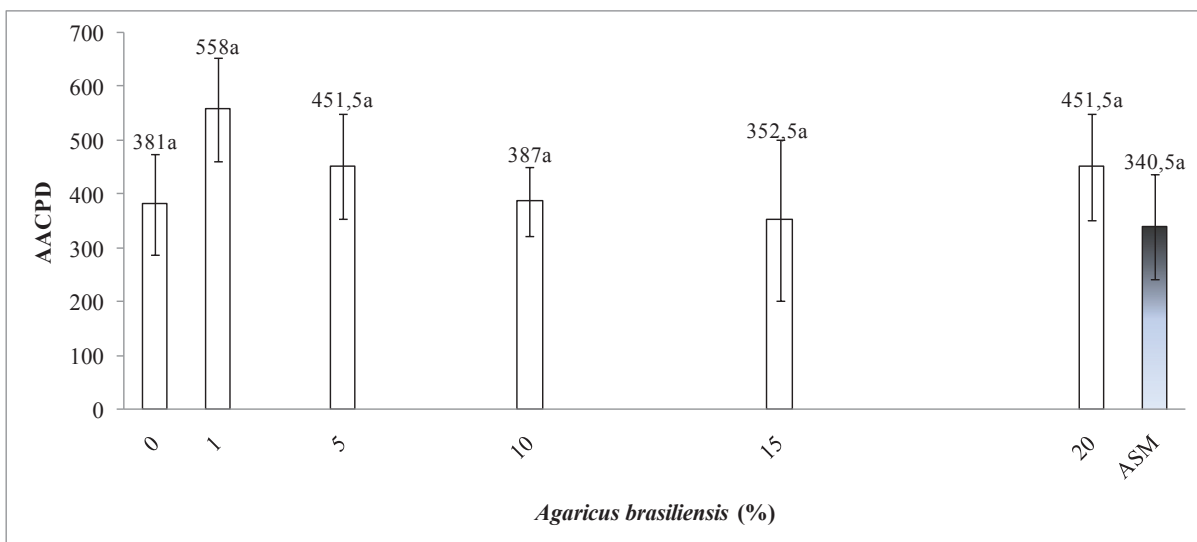
O extrato aquoso do cogumelo *Pycnoporus sanguineus* (L. ex Fr) Murr. preparado a partir do filtrado do meio de cultivo líquido não apresentou controle sobre o crescimento

micelial, esporulação e germinação de *Pseudocercospora griseola*, agente causal da mancha angular do feijoeiro (VIECELLI et al., 2009). Porém o extrato do micélio desse cogumelo reduziu a germinação dos esporos de *P. griseola* em até 70% na concentração de 20% em relação ao ASM, essa mesma concentração e as de 5, 10 e 15% reduziram totalmente o crescimento micelial e a esporulação em 100% do patógeno, não diferindo estatisticamente do fungicida azoxystrobin e as concentrações também mostraram-se tão fungitóxicas quanto ao ASM (VIECELLI et al. 2010). Todavia, Soares et al. (2008) observaram que esse indutor sintético não apresentou efeito significativo sobre a germinação de *Curvularia eragrostides*, agente causal da queima das folhas de inhame, porém verificaram que as concentrações de 250 e 125 ppm de ASM inibiram o crescimento micelial do patógeno em 68 e 56%, respectivamente.

Filtrado e extratos de *P. sanguineus* nas concentrações de 1, 5, 10, 15 e 20% sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli* apresentaram ação antibacteriana na dose acima de 15% para o filtrado e para o extrato de basidiocarpo em todas as concentrações avaliadas (TOILLIER et al., 2010).

3.1.2. Efeito da suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis* em videira cv. Isabel Precoce em condições de casa de vegetação em Guarapuava-PR

As doses da SMA de *A. brasiliensis* e o acibenzolar-S-metil, não apresentaram efeito significativo sobre a AACPD do míldio em videiras cv. Isabel Precoce nas condições de casa de vegetação (Figura 7). Esse fato possivelmente deve ter ocorrido porque na SMA do cogumelo provavelmente estavam presentes resíduos de açúcares provenientes do meio de cultura utilizado para o cultivo do *A. brasiliensis*, que atuaram como substâncias nutritivas para que ocorresse a infecção do patógeno na planta.



*Barras verticais representam o desvio padrão (N=5)

Figura 7: Área abaixo da curva do progresso da doença (AACPD) do míldio em videiras cv. Isabel Precoce em casa de vegetação, tratadas com as doses de 1, 5, 10, 15 e 20% da suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*, testemunha absoluta (sem tratamento) e acibenzolar-S-metil (ASM) (Guarapuava, 2014). Números seguidos de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Esse fato provavelmente ocorreu devido ao efeito protetor depender da concentração do cogumelo e do intervalo de tempo entre a aplicação dos tratamentos, para que ocorra a indução, e a inoculação do patógeno (VIECELLI et al., 2010). Cabral et al. (2010) também reafirmam que a época de aplicação pode afetar a eficiência do produto, pois ao aplicar ASM em moloeiros no controle da mancha aquosa, causado por *Acidovorax citrulli*, 10 dias após a emergência das plantulas o indutor reduziu a incidência da doença em 88% e a AACPD em 94%. Dessa forma, pode-se dizer que os tratamentos poderiam ter maior efetividade no controle do míldio se mais de uma aplicação preventiva tivesse sido realizada.

Esse efeito protetor foi confirmado por Soares et al. (2008) que avaliaram a ação do ASM sobre plantas de inhame contra a queima das folhas (*Curvularia eragrostides*) e verificaram que a dose de 15 g L⁻¹ do indutor sintético reduziu em 76,15% a severidade da doença, quando aplicado 15 dias antes da inoculação do patógeno.

Camili et al. (2009) ao testar os extratos de *A. blazei* e *L. edodes* aplicados sobre uva 'Itália' verificaram que após 4h de inoculação de *Botrytis cinerea* não houve diferença no índice de desenvolvimento da doença. Contudo, a dose de 5,0% de *A. blazei* apresentou os menores valores de podridão nos cachos, fato esse observado na concentração de 40,0% de *L. edodes*. Já a dose de 20,0% de *A. blazei* foi mais eficiente que o outro cogumelo na redução do mofo cinzento da uva.

Di Piero ; Pascholati (2004) também relataram redução parcial da severidade da antracnose em folhas de pepino pré-tratadas com extratos de *L. edodes* e *A. blazei*. Além disso, extratos de ambos os cogumelos reduziram significativamente a incidência do vírus *Cowpea aphid-borne mosaic virus* (CABMV) em plantas de maracujá, quando aplicados de forma preventiva (DI PIERO et al., 2010).

Piccinin et al. (2010) relataram que o extrato aquoso do basidiocarpo de *L. edodes* e o composto lentianana também reduziram parcialmente a severidade das doenças causadas por *E. turcicum* e *C. subliniolum* em sorgo, quando pulverizadas 48h antes da inoculação das plantas.

Coqueiro et al. (2011) observaram redução significativa da área necrosada de maracujá azedo, causada pela antracnose (*C. gloeosporioides*) quando tratados com suspensões de *A. blazei* associado a fécula de mandioca a 3%. De forma semelhante ao relatado no presente trabalho, os autores verificaram que o acibenzolar-S-metil também não reduziu a doença nesses frutos. Cia (2005) verificou que o extrato desses cogumelos não proporcionaram redução nas lesões ocasionadas por *C. gloeosporioides* na cultura do mamão, e que a dose de 5% do cogumelo “shiitake” provavelmente não estimulou respostas de defesa no fruto.

3.2. Efeito da suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis* na indução de resistência de videira cv. Isabel Precoce contra o míldio (*P. viticola*)

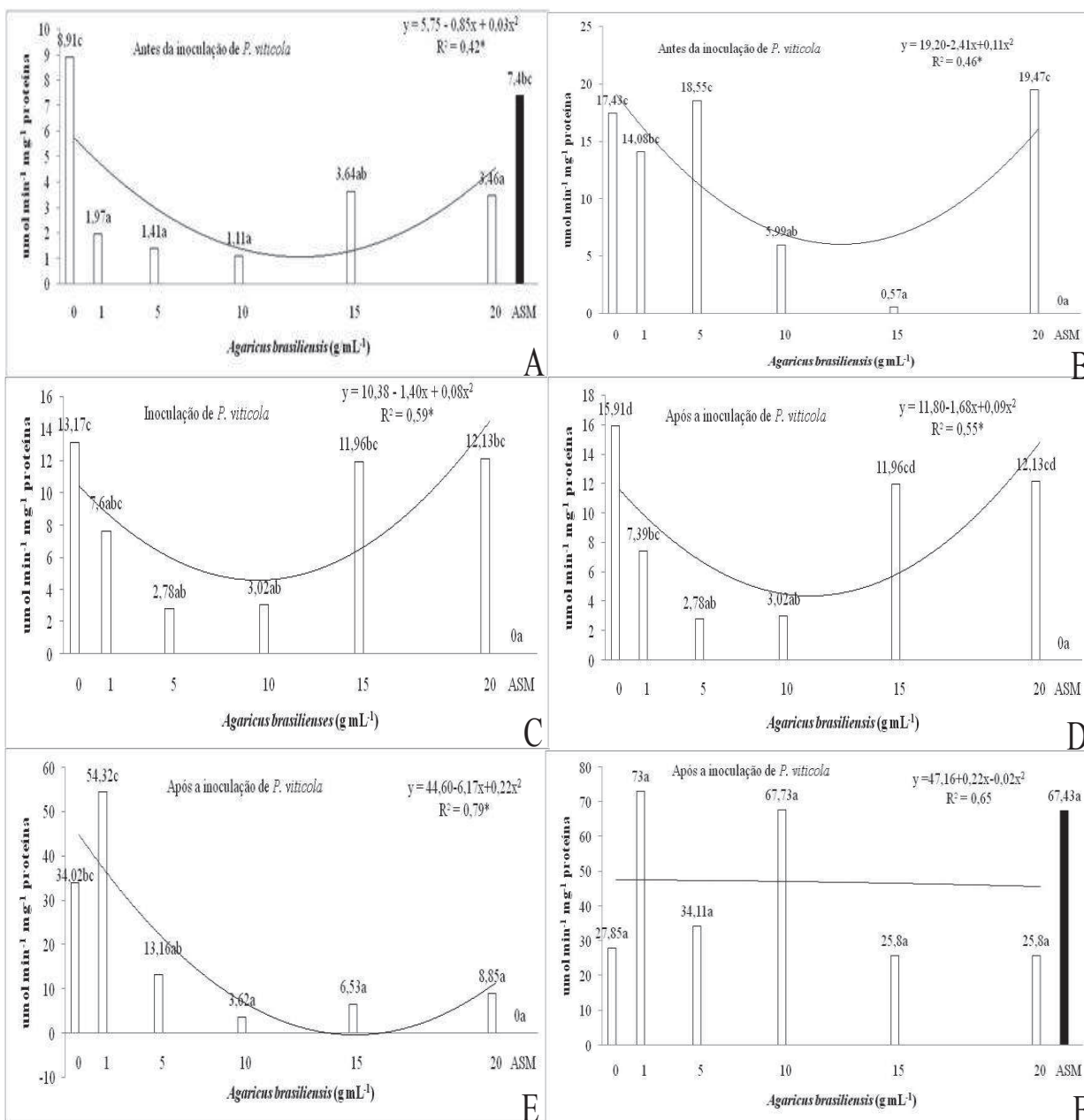
3.2.1. Catalase

No período de 6h houve efeito quadrático em função das doses de 1, 5, 10, 15 e 20% da SAM de *A. brasiliensis* com redução de 78%, 84%, 88%, 59% e 61% respectivamente, da atividade da catalase quando comparado com a testemunha absoluta e o ASM a redução foi de 17% (Figura 8). Essa baixa atividade de catalase, possivelmente resulta na alta concentração de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), espécie reativa de oxigênio, que pode atuar como mensageiro secundário na indução de genes relacionados à patogenicidade (CHEN et al., 1993; SOARES ; MACHADO, 2007).

Para 12h observou-se comportamento semelhante ao anterior, as doses de 10 e 15% da SMA apresentaram redução da atividade de enzima em 65% e 96,7%, respectivamente (Figura 8).

As doses estimadas referentes aos períodos de 24h e 48h foram, respectivamente, de 8,75 e 9,33% da SMA de *A. brasiliensis*. As doses de 5 e 10% de SMA reduziram a atividade da enzima em aproximadamente 78,9% e 75,7% respectivamente, quando comparado com a testemunha, sendo que o ASM não apresentou atividade enzimática. Em ambos os períodos, a dose de 15% de *A. brasiliensis* apresentou picos na atividade de CAT, possivelmente devido a altos níveis de peróxido de hidrogênio nesse momento, sendo que a avaliação para 48h corresponde ao período de 24h após a inoculação de *P. viticola* (Figura 8).

No período de 72h após a aplicação da SMA do cogumelo, somente a dose de 1% não reduziu a atividade da CAT, sendo a dose estimada de 14,02%. As doses de 5, 10, 15 e 20% da SMA resultaram na redução de 61,7%, 89,4%, 80,9% e 74%, respectivamente, quando comparado com tratamento testemunha. Em 96h observou-se que tanto as doses da SMA do cogumelo quanto o produto comercial não interferiram na atividade enzimática, pois enzimas relacionadas à explosão oxidativa apresentam frequentemente uma resposta muito rápida, podendo ocorrer no intervalo de segundos, minutos e horas após a aplicação do tratamento elicitor ou adição do patógeno (HEISER ; OBWALD, 2008) (Figura 8).



*significativo estatisticamente a 5% de probabilidade

Figura 8: Atividade de catalase em discos de videira (cv. Isabel Precoce), tratados com as doses de 1, 5, 10, 15 e 20% da suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*, Acibenzolar-S-metil (0,005%) e testemunha absoluta (sem tratamento) coletados nos períodos de 6h (A), 12h (B), 24h (C), 48h (D), 72h(E) e 96h(F), após a aplicação dos tratamentos (Guarapuava-PR, 2014).

Com a redução na atividade dessa enzima, observadas nas primeiras horas após a aplicação dos tratamentos, pode-se evidenciar a ativação da rota metabólica dita octadenoide, que é responsável pela produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), que pode atuar inicialmente como molécula sinalizadora de defesa das plantas. Como a CAT detoxica esses compostos, e os tratamentos baixaram a sua atividade, possivelmente a planta apresentou

indução de resistência, pois as EROs podem atuar sobre o patógeno, inibindo o seu desenvolvimento. Além disso, pode também fortalecer a parede celular do vegetal, através da formação de ligações cruzadas com proteínas estruturais ou da peroxidação de lipídios da membrana plasmática, fortalecendo sua integridade (SOARES ; MACHADO, 2007; STANGARLIN ; LEITE, 2008). Essa redução da atividade de CAT foi observada, para algumas doses, até às 72h após a aplicação dos tratamentos, porém deve-se ressaltar que o *P. viticola* demora em média 4 dias para completar o seu ciclo reprodutivo, portanto como em 96h após a aplicação dos tratamentos a CAT não apresentou atividade, esse período foi crucial para o desenvolvimento da doença. Talvez se essa redução tivesse sido mantida até 96h poderíamos obter controle do míldio da videira. Como também deve-se considerar que a concentração da EROs deve ser alta no sítio da infecção, assim como também o patógeno tem que ser sensível a concentração de H₂O₂ presente na célula para que possa obter-se ação antimicrobiótica efetiva (MEDHY et al., 1996; AMORIM ; KUNIYURI, 2005).

Baldo et al. (2011) verificaram que o extrato aquoso do basidiocarpo e do micélio de *Pycnoporus sanguineus* na concentração de 5% (p/v) induziram a formação de H₂O₂ após 120 h de aplicação dos tratamentos e consequentemente redução, de em média de 54%, da severidade da antracnose do feijão (*Colletotrichum lindemuthianum*).

Alamino et al. (2013) testaram o efeito em pós-colheita dos elicitores (ASM) e da proteína harpina na indução de resistência sistêmica a podridão-amarga da maçã, verificando que os tratamentos testados induziram a atividade das enzimas relacionadas ao estresse oxidativo, como a superóxido dismutase, peroxidase e catalase quando comparado com a testemunha. Os autores não observaram diferenças significativas entre os frutos tratados e não tratados com os elicitores quanto à atividade das enzimas fenilalanina amônia-liase, superóxido dismutase, catalase e ascorbato peroxidase, devido ao fato da atividade das enzimas já estarem reduzidas no momento da avaliação, que se procedeu 72h após a inoculação do patógeno e 84h após a aplicação dos tratamentos.

3.2.2. Peroxidase

No período de 6h após a aplicação das doses da SMA de *A. brasiliensis*, a maioria dos resultados apresentaram-se semelhantes tanto ao tratamento testemunha quanto ao padrão, diferindo apenas a dose de 5% do extrato que foi estatisticamente similar ao ASM (figura 9).

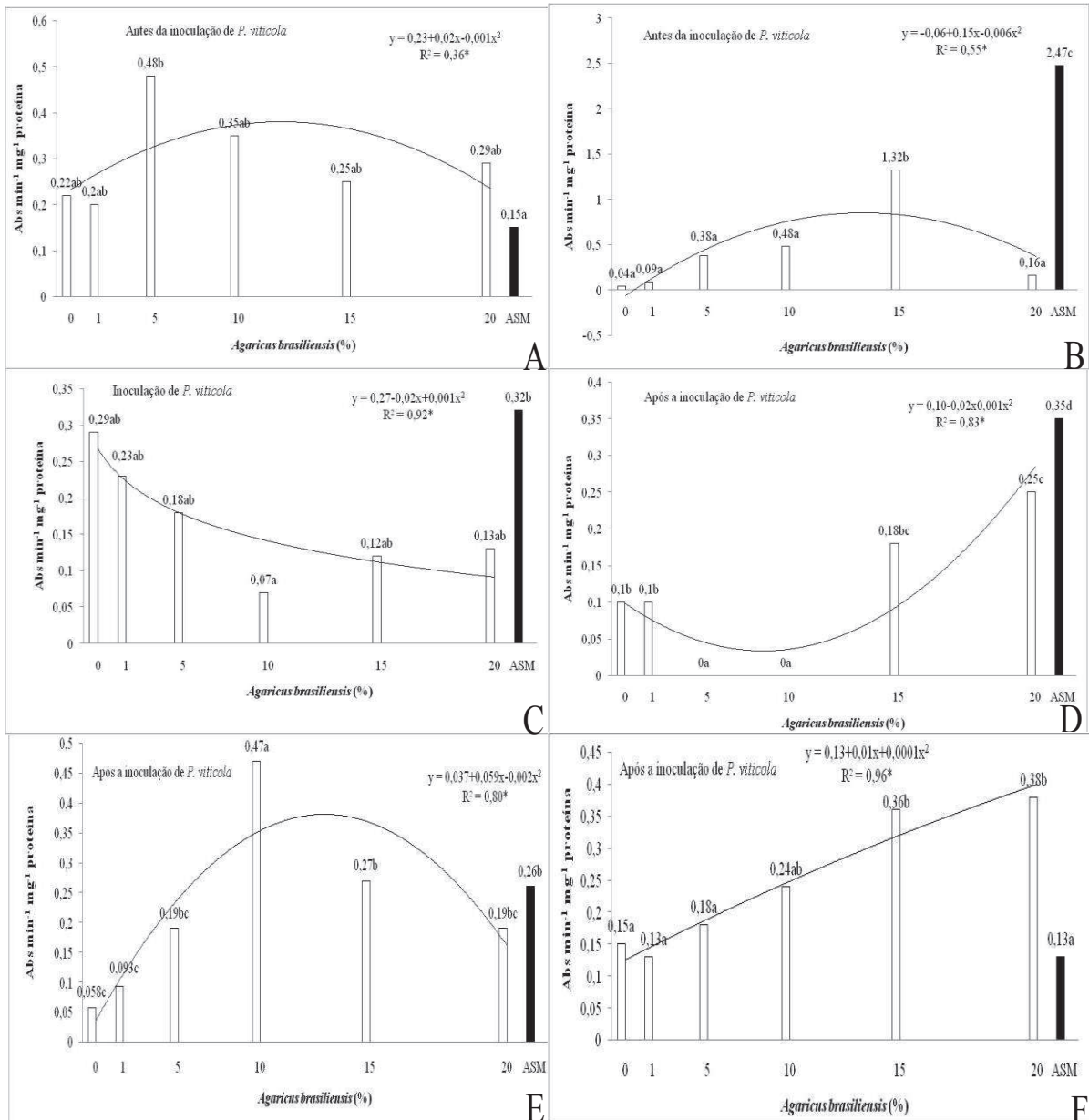
Para 12h observou-se que as doses 1, 5, 10 e 20% da suspensão não diferiram do tratamento testemunha, somente a dose 15% induziu em 3 mil vezes a mais que o tratamento água a atividade da peroxidase (POX), podendo também ser destacado que o ASM proporcionou a maior atividade enzimática, chegando a 6175% (Figura 9).

A redução da atividade da enzima em função da dose foi observada no período de 24h quando comparado com a testemunha. Verificando-se também que nenhum dos tratamentos diferiram estatisticamente da testemunha e do ASM, que proporcionou maior atividade da peroxidase (Figura 9).

Em 48h as menores doses da SMA reduziram a atividade da enzima, chegando a zero nas concentrações de 5 e 10% , porém, em 15 e 20% a peroxidase teve aumento de sua atividade em 80 e 150% respectivamente, a mais que o tratamento testemunha, e ainda esses valores foram inferiores aos do tratamento padrão (ASM) (Figura 9).

Em 72h após a aplicação dos tratamentos, observou-se que as doses de 1, 5 e 20% da SMA não apresentaram diferenças estatísticas da testemunha e as doses 5, 15 e 20% do tratamento padrão (ASM). Também pode ser ressaltado que a de 10% induziu em aproximadamente 707% quando comparada com o tratamento testemunha a atividade de POX (Figura 9).

Em 96h verificou-se que somente as doses de 15 e 20% da SMA de *A. brasiliensis* induziram a atividade da POX, as demais doses e o ASM mostraram-se semelhantes ao tratamento testemunha (Figura 9).



*significativo estatisticamente a 5% de probabilidade

Figura 9: Atividade de peroxidase em discos de videira (cv. Isabel Precoce), tratados com as doses de 1, 5, 10, 15 e 20% da suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*, Acibenzolar-S-metil (0,005%) e testemunha absoluta (sem tratamento) coletados nos períodos de 6h (A), 12h (B), 24h (C), 48h (D), 72h(E) e 96h (F) , após a aplicação dos tratamentos (Guarapuava-PR, 2014).

Com base nos resultados obtidos, pode-se dizer que nos períodos de 6h e 24h após a aplicação dos tratamentos não foram observadas aumento significativo na atividade de POX, porém em 12h a dose de 15%, em 48h as de 15 e 20%, em 72h as de 10 e 15% e em 96h as de 10 e 15%, induziram a atividade dessa enzima. Essa indução provavelmente desenvolveu o fortalecimento da parede celular e da membrana plasmática das células através do processo de lignificação, pois essa enzima cataliza a oxidação e a eventual polimerização de álcool

hidroxicinâmico na presença de H_2O_2 , originando lignina, que funcionaria como barreira física à penetração do patógeno. O aumento da atividade de POX observado nos períodos após a inoculação do patógeno pode estar relacionado, além da ação elicitora de SMA, como também com a presença de enzimas proteolíticas, que provavelmente foram liberadas pelo fitopatógeno (STANGARLIN ; LEITE, 2008). Porém todo esse processo que possivelmente deve ter ocorrido, mostrou-se insuficiente para reduzir a AACPD do míldio da videira. Como também segundo Choi et al. (2008) lipogenases e peroxidases desempenham papéis importantes na capacidade da célula hospedeira em resistir a infecções, como a atividade de POX estava baixa no período da inoculação do *P. viticola*, não ocorreu essa resistência.

Peiter-Beninga et al. (2008), também observaram que as doses de 100, 250, 500 e 750 mg L⁻¹ de extratos de *P. sanguineus* e o extrato diclometânico do basidiocarpo do cogumelo nas concentrações testadas não diferiram entre si e entre a testemunha para a atividade da peroxidase em mesocótilos de sorgo. O extrato hexânico do cogumelo na concentração de 250 mg L⁻¹ apresentou a maior atividade da enzima POX, mas similar ao que aconteceu em algumas doses e períodos do presente trabalho, não apresentou diferença significativa com a testemunha. O extrato etanólico também do *P. sanguineus* reduziu a atividade dessa enzima. Os mesmos extratos em cotilédones de soja também não apresentaram efeito satisfatório para a indução da peroxidase não diferindo da testemunha.

Levando-se em consideração que a cv. Isabel Precoce, segundo Camargo (2004), é suscetível ao míldio da videira (*P. viticola*) justifica-se a baixa atividade da POX em alguns períodos, pois Anjana et al. (2008) verificou alta atividade da peroxidase em genótipos resistentes de girassol frente a *Alternaria helianthi*, quando comparada com suscetíveis. Fernández et al. (1996) ao verificar a ação de peroxidase de guaiacol em folhas de plantas resistentes e suscetíveis de tomateiro inoculadas com *Alternaria solani* também comprovaram que cultivares resistentes apresentam maior atividade dessa enzima.

Antonio et al. (2010) também observaram que linhagens resistentes de feijão contra *Sclerotinia sclerotiorum* apresentaram aumento na atividade da enzima de defesa peroxidase após 4h de inoculação do patógeno, ressaltando que a atividade dessa enzima quando comparada com a linhagem suscetível continuou alta até 168h após a inoculação. Almeida et al. (2012) observaram que 12h após a inoculação de *Phakospora pachyrhizi*, agente causal da ferrugem asiática da soja, genótipos resistentes e suscetíveis apresentaram atividade da

peroxidase superior ao tratamento controle, que são plantas em que não foram inoculadas o patógeno.

Silva et al. (2007) relataram que plantas de tomate tratadas com extrato do basidiocarpo de *A. blazei* e ASM, inoculadas com a bactéria *Ralstonia solanacearum* (murcha bacteriana) apresentaram aumento na atividade da peroxidase no 7º e 12º dia após a aplicação dos tratamentos. Esse fato também foi verificado por Silva et al. (2008) quando trataram plantas de berinjela com esses mesmos tratamentos e obtiveram resultados semelhantes, ou seja, aumento na atividade da peroxidase. Di Piero et al (2006) verificaram que plantas de pepino tratadas com o extrato aquoso do basidiocarpo do cogumelo *L. edodes* causou redução na severidade da antracnose (*C. lagenarium*) e aumento da atividade de peroxidase em folhas de pepino. A maioria dos trabalhos como cogumelo *A. brasiliensis* são realizados com o extrato feito a partir do basidiocarpo, considerando que no presente trabalho utilizou-se o micélio e que o teor de umidade encontrava-se em torno de 94% e, portanto a concentração de príncipios ativo é baixa, pode-ser que esse seja um dos motivos que colaboraram na ausência de efeito indutor de resistência.

Silva et al. (2011) ao testarem o efeito de 60 isolados de *Trichoderma* na indução de resitência sistêmica à antracnose (*Colletotrichum lagenarium*) em pepino, observaram que apenas as plantas tratadas com o patógeno apresentaram aumento significativo na atividade dessa enzima, sendo que o isolado IB 31/06 após 7 ou 14 dias não apresentou efeito significativo quando comparado com o tratamento controle (ausência de *Trichoderma*).

Rodrigues et al. (2006) observaram resultados contrários aos obtidos no presente trabalho com relação ao ASM. Segundo os autores, esse produto aumentou a atividade da peroxidase cinco dias após a inoculação de *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum*, agente causal da murcha de fusário em caupi, na cultivar IPA-206, sendo que o mesmo tratamento ainda apresentou o mesmo resultado após 10 dias de inoculação do patógeno nessa mesma cultivar e também na BR 17- Gurgéia. Resende et al. (2007) também observaram que esse produto comercial, juntamente com o extrato aquoso e fervido de lobeira, induziram as maiores atividade de peroxidase, dentre outras enzimas analisadas, quando comparadas com o tratamento controle, no período de 4 a 18 dias após a pulverização dos tratamentos.

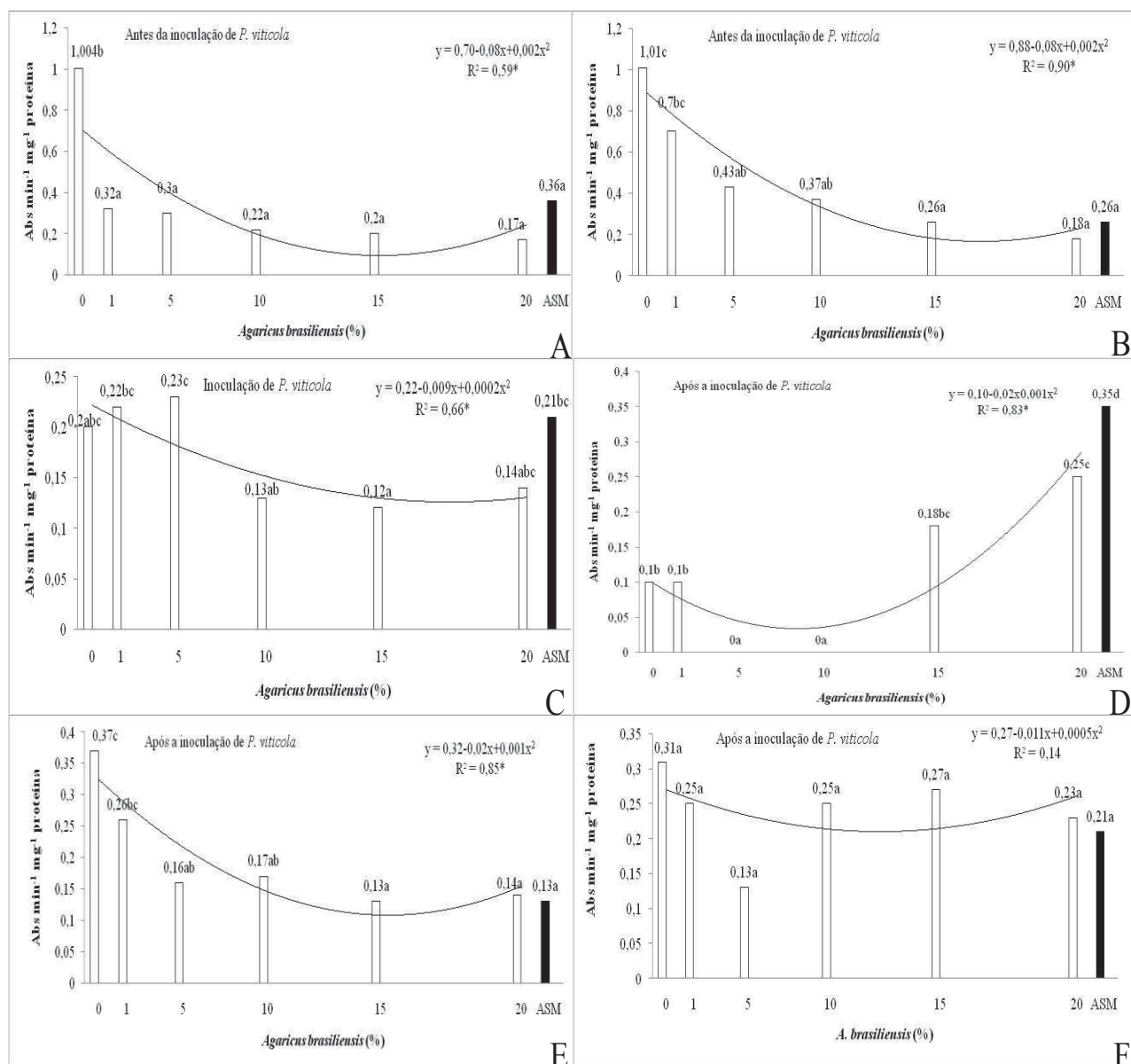
3.2.3. Polifenoloxidase

O período de 6h após aplicação dos tratamentos em videira cv. Isabel Precoce, apresentou efeito quadrático em função das doses da SMA de *A. brasiliensis*. Porém os discos de folhas demonstraram baixa atividade de polifeniloxidase (PFO), sendo que as doses 1, 5, 10, 15 e 20% da SMA proporcionaram reduções de 68,1%, 70,1%, 78%, 80,% e 83%, respectivamente, e o ASM 64%, quando comparados com o tratamento testemunha (Figura 10). Observando-se que os tratamentos mostraram-se estatisticamente semelhantes ao padrão.

A dose ideal estimada para o período de 12h foi de 2% da SMA de *A. brasiliensis*. Os tratamentos proporcionaram efeito quadático em função dos tratamentos testados. A testemunha mostrou-se mais eficiente na indução da PFO do que as doses da SMA de *A. brasiliensis* e o ASM (Figura 10).

Com relação ao período de 24h, todas as doses da suspensão juntamente com o indutor sintético não diferiram estatisticamente do tratamento testemunha (Figura 10). Os tratamentos com a SMA de *A. brasiliensis* no período de 48h após a aplicação, não diferiram estatisticamente do produto comercial, apresentaram redução na atividade de PFO em 52%; 80,6%; 72,7%, 67,5% e 58,4%, repectivamente, e o ASM de 68,8%, quando comparados com o tratamento controle (Figura 10). A dose ideal estimada para esse período foi de 12% da SMA do cogumelo.

Em 72h após a aplicação dos tratamentos observou-se que as doses 1, 5 e 20% da SMA não diferiram estatisticamente do tratamento testemunha e as de 5, 15 e 20% do ASM. Podendo ser destacado que as doses reduziram em 29,7%, 56,8%, 54%, 64,9% e 62,2%, respectivamente, e o produto comercial 64,9%. Porém em 96h após a aplicação dos tratamentos a PFO não apresentou atividade. (Figura 10).



*significativo estatisticamente a 5% de probabilidade

Figura 10: Atividade de polifeniloxidase em discos de videira (cv. Isabel Precoce), tratados com as doses de 1, 5, 10, 15 e 20% da suspensão miceliada aquosa de *Agaricus brasiliensis*, Acibenzolar-S-metil (0,005%) e testemunha absoluta (sem tratamento) coletados nos períodos de 6h (A), 12h (B), 24h (C), 48h (D), 72h(E) e 96h (F), após a aplicação dos tratamentos (Guarapuava-PR, 2014).

A PFO na presença do ácido clorogênico, composto fenólico que é oxidado por essa enzima, utiliza o O₂ como aceptor de elétrons, originando quinonas, que são altamente tóxicas à patógenos, sendo potentes bactericidas e fungicidas em variedades resistentes. Como no presente trabalho os tratamentos não induziram a atividade da polifenoloxidase, e levando-se em consideração de que a cultivar utilizada nos experimentos é suscetível ao mildio da videira, observou-se ausência de controle e indução de resistência. Também pode ser

ressaltado que a enzima POX também pode oxidar os compostos fenólicos e como a atividade dessa enzima apresentou-se em alta em alguns períodos, provavelmente deve ter atuado sobre os fenóis e com isso inibiu a PFO (CAMPOS ; SILVEIRA, 2003; CAMPOS et al., 2004; SCHWAN-ESTRADA et al., 2008).

Silva et al. (2007) também observaram que plantas de tomate tratadas com extratos aquosos obtidos do basidiocarpo de cogumelos como o *A. blazei* contra a bactéria *Ralstonia solanacearum*, apresentaram aumento da atividade de POX e redução em PFO em plantas tratadas e inoculadas.

Efeito similar ao do presente trabalho foi observado com extrato bruto do basidiocarpo *P. sanguineus* testado na indução de mecanismos de defesa em cotilédones de soja, a análise de enzimas de indução de resistência, como a polifenoloxidase apresentou redução na atividade dessa enzima de 56,9% para o extrato bruto do cogumelo a 20% em relação ao tratamento água (IURKV, 2009).

BALBI-PEÑA et al. (2012) verificaram que a atividade de PFO em tomate pertencente genótipo Kada, considerado suscetível ao *Oidium neolycopersici*, não apresentou alteração ao longo do período avaliado entre plantas inoculadas e não inoculadas com o patógeno. Segundo BALBI-PEÑA (2010) essa enzima apresenta a habilidade em gerar EROs (espécies reativas ao oxigênio) assim como também apresenta papel direto em potencializar respostas de defesa.

Esse fato se confirma de acordo com os dados obtidos por Viecegli et al. (2010) que testaram o potencial de extratos de micélio de *P. sanguineus* na indução de resistência em feijoeiro contra a mancha angular causada por *P. griseola*. Verificaram que a atividade de PFO foi influenciada pelos tratamentos na 3ª folha tratada, bem como também a 4ª não tratada e inoculada, demonstrando sistemicidade do efeito do cogumelo. O tratamento com micélio a 20% apresentou superior atividade de PFO quando comparado com o azoxystrobin 3 dias após inoculação e à água e ao fungicida, e 4 a 5 dias após inoculação, apresentando redução na atividade enzimática em relação ao ASM. Soares et al. (2004) também observaram que o ASM aplicado sobre o feijoeiro induziu a resistência à murcha-de-curtobacterium (*Curtobacterium flaccumfaciens*) possibilitando alta atividade de PFO no caule das plantas pulverizadas.

4. CONCLUSÕES

- A suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis* inibiu a germinação de *P. viticola*;
- A suspensão miceliada aquosa do cogumelo e o ASM não apresentaram efeito significativo sobre a AACPD do míldio da videira cv. Isabel Precoce em condições de casa de vegetação;
- No período de 6h após a aplicação dos tratamentos, as doses da suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis* reduziram a atividade da catalase. Em 12h somente as doses 10 e 15% da suspensão e o ASM apresentaram esse efeito. Em 24 e 48h foram as doses de 1, 5, 10 % e o indutor sintético. Com 72h foram às doses 1, 5, 10, 15 e 20% da suspensão e o ASM. Sendo que em 96h a CAT não apresentou atividade;
- A atividade de POX foi induzida pela dose 15% da suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis* no período de 12h após a aplicação dos tratamentos, em 48h esse efeito foi observado para 15 e 20%, em 72h a de 10% e em 96h as doses de 15 e 20%;
- As doses da suspensão miceliada aquosa de *A. brasiliensis* não induziram a atividade de PFO.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALAMINO, D.A.; CABRAL, V.B.; DANNER, M.A.; MARCHESE, J.A. Indução de resistência á podridão- amarga em maçãs pelo uso de elicitores em pós-colheita. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, Brasília, v.48, n.3, p.249-254, 2013.
- ALARCON, L.C.M.; MICHELLETO, D.; PORTAS, A.A.; BUENO, S.C.S. Implantação do vinhedo. In: BUENO, S.C.S. **Vinhedo Paulista**. 1ºed. Campinas, 2010. p. 55-85.
- ALMEIDA, H.O.; BARBOSA, M.de O.; MARQUES, A.E.; PEREIRA, T.H.A.; MAGALHÃES JÚNIOR, M.J.; TESSAROLLO, N.G.; GAMES, P.D.; BARROS, E.G.de; STOLF-MOREIRA, R.; MARCELINO-GUIMARÃES, F.C.; ABDELNOOR, R.V.; PEREIRA, P.R.G.; BARACAT-PEREIRA, M.C. Enzimas marcadoras de indução de resitência diferencialmente reguladas em soja resistente e suscetível à ferrugem-asiática-da-soja, **Pesquisa Agropecuária brasileira**, Brasília, 2012.
- AMORIM, L.; KUNIYUKI, H. Doenças da Videira. Cap70. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L.E.A. (Eds.) (2005) **Manual de Fitopatologia. Doenças das Plantas Cultivadas**. 4ª. Ed. São Paulo SP. Ceres. v2, p.639-651, 2005.
- ANJANA, G.; RINI, K.; SHETTY, H.S.; PRAKASH, H.S. Changes in peroxidase activity in sunflower during infection by necrotrophic pathogen *Alternaria helianthi*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, Berlin, v. 41, p. 586-596, 2008.
- ANTONIO, R.P.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; LARA, L.A. de C.; SANTOS, J.B. dos; RESENDE, M.L.V. de; PEREIRA, L. de M. Atividade de proteínas de defesa em cultivares de feijoeiro inoculadas com *Sclerotinia sclerotiorum* In: Resumos do XIX Congresso de Pós-Graduação, Universidade Federal de Lavras, Lavras, **Resumos...**, Lavras, 2010.
- AZEVEDO, L.A.S. **Manual de quantificação de doenças de plantas**. São Paulo: Novartis, 1997. 114p.
- BALBI-PEÑA, M. **Respostas de genótipos de tomate suscetíveis e resistentes a *Oidium neolycopersici* e *Alternaria solani*, localização *in situ* de espécies reativas de oxigênio e atividade de enzimas relacionadas á defesa**, 2010, 190p., Tese (Doutorado em Proteção de Plantas)- Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.
- BALBI-PEÑA, M.I.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F; STANGARLIN, J.R. Differential occurrence of the oxidative burst and the activity of defence-related enzymes in compatible and incompatible tomato- *Oidium neolycopersici* interactions. **Australasian Plant Pathology**, v.41, p.573-586, 2012.
- BALDO, M.; STANGARLI, J.R.; FRANZENER, G.; ASSI, L.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Detecção *in situ* de espécies reativas de oxigênio em feijoeiro tratados com extratos de *Pycnoporus sanguineus* e inoculado com *Colletotrichum lindemuthianum*. **Summa Phytopathologica**, Botucatu, v.27, n.4, p.174-179, 2011.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, Orlando, v. 72, p. 248–254, 1976.

CABRAL, C.da P.; GAMA, M.A.S.da; ALEXANDRE, E.R.; MARIANO, R. de L.R.; SILVEIRA, Z.B.da. Efeito de acibenzolar-S-metil, manamoligossacarídeo e bioflavonóides cítricos no controle da mancha-aquosa e no crescimento do meloieiro, **Tropical Plant Pathology**, v.35, n.2, 2010.

CAMARGO, A.C. ‘Isabel Precoce’: Alternativa para a viticultura brasileira, Bento Gonçalves-RS: EMBRAPA, 2004.6p. (EMBRAPA. Boletim Técnico, 6).

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. (Ed.). Introduction to plant disease epidemiology. NY: Wiley, New York, 532p., 1990.

CAMPOS, A.D.; FERREIRA, A.G.; HAMPE, M.M.V.; ANTUNES, I.F.; BRANCÃO, N.; SILVEIRA, E.P. da; OSÓRIO, V.A.; AUGUSTIN, E. Atividade de peroxidase e polifenoloxidase na resistência do feijão a antracnose. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.3, n.7, p. 637-643, 2004.

CAMPOS, A.D.; SILVEIRA, E.M.da L. **Metodologia para a determinação da peroxidase e da polifenoloxidase em plantas**, Pelotas-RS: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003. 2p. (Comunicado Técnico, 87).

CHEN, Z.; SILVA, H.; KLESSIG, D. F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. **Science**, Washington DC, v. 262, p. 1883–1886, 1993.

CHOI, J.J.; ALKHAROUF, N.W.; SCHNEIDER, K.T.; MATTHEWS, B.F.; FREDERICK, R.D. Expression patterns in soybean resistant to *Phakopsora pachyrhizi* reveal the importance of peroxidases and lipoxygenases. **Functional and Integrative Genomics**, v.8, p.341-359, 2008.

CIA, P. **Avaliação de agents bióticos e abióticos na indução de resistência pós-colheita da antracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) em mamão (*Carica papaya*)**. 2005. 187p. Tese (Doutorado em fitopatologia)- Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, São Paulo, 2005.

COQUEIRO, D.S.O.; SILVA, C.N.; CERQUEIRA-SILVA, C.B.M.; LIMA, G.S.A.; SANTOS, A.; OLIVEIRA, A.C. Aplicação de suspensões de *Agaricus blazei*, *Lentinula edodes* e Acibenzolar-S-metil na redução da antracnose em frutos de maracujá azedo. **Tropical plant pathology**, v.36, n.1, 2011.

DI PIERO, R.M. **Potencial dos cogumelos *Lentinula edodes* (shiitake) e *Agaricus blazei* (cogumelo do sol) no controle de doenças em planta de pepino, maracujá e tomate, e a purificação parcial de compostos biologicamente ativos: Indução de resistência em plantas de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pela aplicação de extratos de basidiocarpos de *Lentinula edodes* (cogumelo shiitake) e de *Agaricus blazei* (cogumelo do sol)**. 2003. 171 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Instituto de Fitopatologia, Universidade de São Paulo, Piracicaba. 2003.

DI PIERO, R.M.; PASCHOLATI, S.F. Indução de resistência em plantas de pepino contra *Colletotrichum lagenarium* pela aplicação de extratos de basidiocarpos de *Lentinula edodes* e de *Agaricus blazei*. **Summa Phytopathologica**, v.30, p.243-250, 2004.

DI PEIRO, R.M.; WULFF, N.A.; PASCHOLATI, S.F. Partial purification of elicitors from *Lentinula edodes* basidiocarps protecting cucumber seedlings against *Colletotrichum lagenarium*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.37, p.175-180, 2006.

DI PIERO, R.M.; NOVAES, Q.S.; PASCHOLATI, S.F. Effect of *Agaricus brasiliensis* and *Lentinula edodes* mushrooms on the infection of passionflower with *Cowpea aphid-borne mosaic virus*. **Brazilian Archives of Biology and Technology**. v.53, p.269-278, 2010.

DUANGMAL, K.; APENTEN, R. K. O. A comparative study of polyphenoloxidases from taro (*Colocasia esculenta*) e potato (*Solanum tuberosum* var. Romano). **Food Chemistry**, Barking, v. 64, p. 351-359, 1999.

FERNÁNDEZ, A.; FERNÁNDES, E.; BELKIS, P.; PETEIRA, B.; SOLÓRZANO, E. Inducción de peroxidasa em hojas de tomate com diferente grado de susceptibilidad a *Alternaria solani*. **Revista de Protección Vegetal**, La Habana, v. 11, p. 79-83, 1996.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, p.1039-1042, 2011.

FIORI-TUTIDA, A.C.G. **Uso de extratos dos cogumelos *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler e *Agaricus blazei* (Murril) ss. Heinem no controle *in vitro* de *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* e na indução de resistência em trigo a *Bipolaris sorokiniana***. 2003. Tese (Doutorado em Proteção de Plantas), Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR 2003.

FIORI-TUTIDA, A.C.G.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Extracts of *Lentinula edodes* and *Agaricus blazei* on *Bipolaris sorokiniana* and *Puccinia recondita* f.sp. *tritici*, *in vitro*. **Summa Phytopathologica**, v.33, n.3, p.113-118, 2007.

GARRIDO, L.R.; SÔNEGO, O.R. Uvas veníferas para processamento em regiões de clima temperado. **Embrapa Uva e Vinho**, 2003. Disponível em <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Uva/UvasViniferasRegioesClimaTemperado/doenca.htm>. Acesso em 13/04/2014.

HEISER, I.; OBWALD, W.F. Formação e função das espécies reativas de oxigênio nas interações planta-patógeno. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. **Interação planta-patógeno: Fisiologia, Bioquímica e Biologia Molecular**, v.13, p. 249-283, 2008

IURKV, L. **Purificação parcial de compostos biologicamente ativos a partir de *Pycnoporus sanguineus* para o controle de ferrugem asiática em soja**, 2009, Dissertação (Mestrado em Agronomia)-Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, 2009.

KAR, M.; MISHRA, D. Catalase, peroxidase, and polyphenoloxidase activities during Rice leaf senescence, **Physiologia Plantarum**, v.57, p.315-319, 1976.

MEDHY, M.C.; SHARMA, Y.K.; SATHASIVAN, K.; BAYS, N.W. The role of activated oxygen species in plant disease resistance. **Physiologia Plantarum**, v. 98, p. 365-374, 1996.

LUSSO, M. F. G.; PASCHOLATI, S. F. Activity and isoenzymatic pattern of soluble peroxidases in maize tissues after mechanical injury or fungal inoculation. **Summa Phytopathologica**, v. 25, p. 244-249, 1999.

NEVES, R.de.L.; GARRIDO, L.da.R.; SÔNEGO, O.R.; KUHN, G.B. **Sistema de produção de uvas rústicas para processamento em regiões tropicais do Brasil**. 9 ed: EMBRAPA uva e vinho, 2005. P.1-8.

PICCININ, E.; DI PEIRO, R.M.; PASCHOLATI, S.F. “Shiitake” (*Lentinula edodes*) mushroom reduces growth of plant pathogens and leaf spot severity in sorghum. **Summa Phytopathologica**, v.36, p.68-72, 2010.

PEITER-BENINCA, C.; FRANZENER, L.; ASSI, L.; IURKIV, L.; ECKSTEIN, B.; COSTA, V.C.; NOGUEIRA, M.A.; STANGARLIN, J.R.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Indução de fitoalexinas e atividade de peroxidases em sorgo e soja tratados com extratos de basidiocarpos de *Pycnoporus sanguineus*. **Arquivo do Instituto Biológico** São Paulo, v.75, n.3, p.285-292, 2008.

POMMER, C.V.; TERRA, M.M; PIRES, E.J. Cultivares, melhoramento e fisiologia – Cultivares de videira. Cap. 4 In: POMMER, C.V. Ed. **Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado**/editado por C.V. POMMER. Porto Alegre: Cinco Continentes, p109-294, 2003.

RESENDE, M.C.; OLIVA, C.R.; FFELDMAN, M.L.; CASTAGNARO, A.P.; CANAL, L. A sunflower leaf antifungal peptide active against *Sclerotinia sclerotiorum*. **Physiologia Plantarum**, v. 100, p.178-182, 1997.

RESENDE, M.L.V.; COSTA, J.de C.B.; CAVALCANTE, F.R.; RIBEIRO JÚNIOR, P.M.; CAMILO, F.R. Seleção de extratos vegetais para indução de resistência e ativação de respostas de defesa em cacaueteiro contra a vassoura-de-bruxa. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.3, 2007.

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

SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R.; PASCHOLATI, S.F. Mecanismos bioquímicos de defesa vegetal. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. **Interação planta- patógenos: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**, ed. 13, p.227-248, 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: RODRIGUES, F de A.; FORTUNATO, A.A.; RESENDE, R.S. **Indução de resistência em plantas a patógenos**. 22 ed. Universidade Federal de Lavras, 2012, p.9-28.

SILVA, R.F.; PASCHOLATI, S.F.; BEDENDO, I.P. Indução de resistência em tomateiro por extratos aquosos de *Lentinula edodes* e *Agaricus blazei* contra *Ralstonia solanacearum*. **Fitopatologia Brasileira**, v.32, n.3, 2007.

SILVA, R.F.; PASCHOLATI, S.F.; BEDENDO, I.P. Indução de resistência em plantas de berinjela por *Lentinula edodes* e *Agaricus brasiliensis* contra *Ralstonia solanacearum*: aspectos bioquímicos e biomassa vegetal. **Summa Phytopathologica**, v.34, n.2, p.137-144, 2008.

SILVA, V.N.da; GUZZO, S.D.; LUCON, C.M.M.; HARAKAVA, R. Promoção de crescimento e indução de resistência à antracnose por *Trichoderma* spp. em pepineiro, **Pesquisa agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.12, p.1609-1618, 2011.

SOARES, R.M.; MARINGONI, A.C.; LIMA, G.P.P. Influência de acibenzolar-S-methyl na indução de resistência de feijoeiro comum à murcha-de-curtobacterium, **Fitopatologia Brasileira**, v.29, n.4, 2004.

SOARES, A.C.F.; PEREZ, J.O.; SOUZA, C. da S.; GARRIDO, M. da. S.; ALMEIDA, N.S.de. Eficiência de acibenzolar-s-metil na proteção de plantas de inhame à *Curvularia eragrostides*, **Revista Caatinga**, v.21, n.1, p. 147-151, 2008.

SOARES, A.M. dos S.; MACHADO, O.L.T. Defesa de plantas: sinalização química e espécies reativas de oxigênio. **Revista Trópica-Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1, n.1, 2007.

STANGARLIN, J.R.; 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. ; KUHN, O. J. 1

STANGARLIN, J.R.; LEITE, B. Alterações fisiológicas na suscetibilidade. In: PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R.; CIA, P. **Interação planta-patógenos: fisiologia, bioquímica e biologia molecular**, v. 13, p.177-284, 2008.

TOILLIER S.L.; IURKIV, L.; MEIENRZ, C.C.; BALDO, M.; VIECELLI, C.A.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F.; STANGARLIN, J.R. Controlo f bacterial blight (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*) and biochemical analyses of bean resistance treated with *Pycnopus sanguineus* extracts. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.77, p.99-110, 2010.

TOMÁNKOVÁ, K.; LUHOVÁ, L.; PETØIVALSKÝ, M.; PEÈ, P.; LEBEDA, A. Biochemical aspects of reactive oxygen species formation in the interaction between *Lycopersicon* spp. and *Oidium neolycopersici*. **Physiological and Molecular Plant Pathology**, v.68, p. 22-32, 2006.

TSAI, S.Y.; TSAI, H.; MAU, J.L. Antioxi properties of *Agaricus blazei*, *Agrocube cylindracea* and *Boletus edulis*. **Lebensm wiss technol**, v. 40, n.8, 2007.

VIECELLI, C.A.; ATANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Induction of resistance in beans against *Pseudocercospora griseola* by culture filtrates of *Pycnopus sanguineus*. **Plant Pathology**, v.34, p.87-96, 2009.

VIECELLI, C.A.; STANGARLIN, J.R.; KUHN, O.J.; SCHWAN-ESTRADA, K.R.F. Resistance induction in bean plants against angular leaf spot by extracts from *Pycnopus sanguineus* mycilium. **Summa Phytopathologica**, v.36, p.73-80, 2010.

WORDELL FILHO, J.A.; MARTINS, D.A.; STADNIK, M.J. Aplicação foliar de tratamentos para o controle do míldio e da podridão-de-escamas de bulbo de cebola. **Horticultura Brasileira**, v.25, n.4, out./dez. 2007.

ANEXO

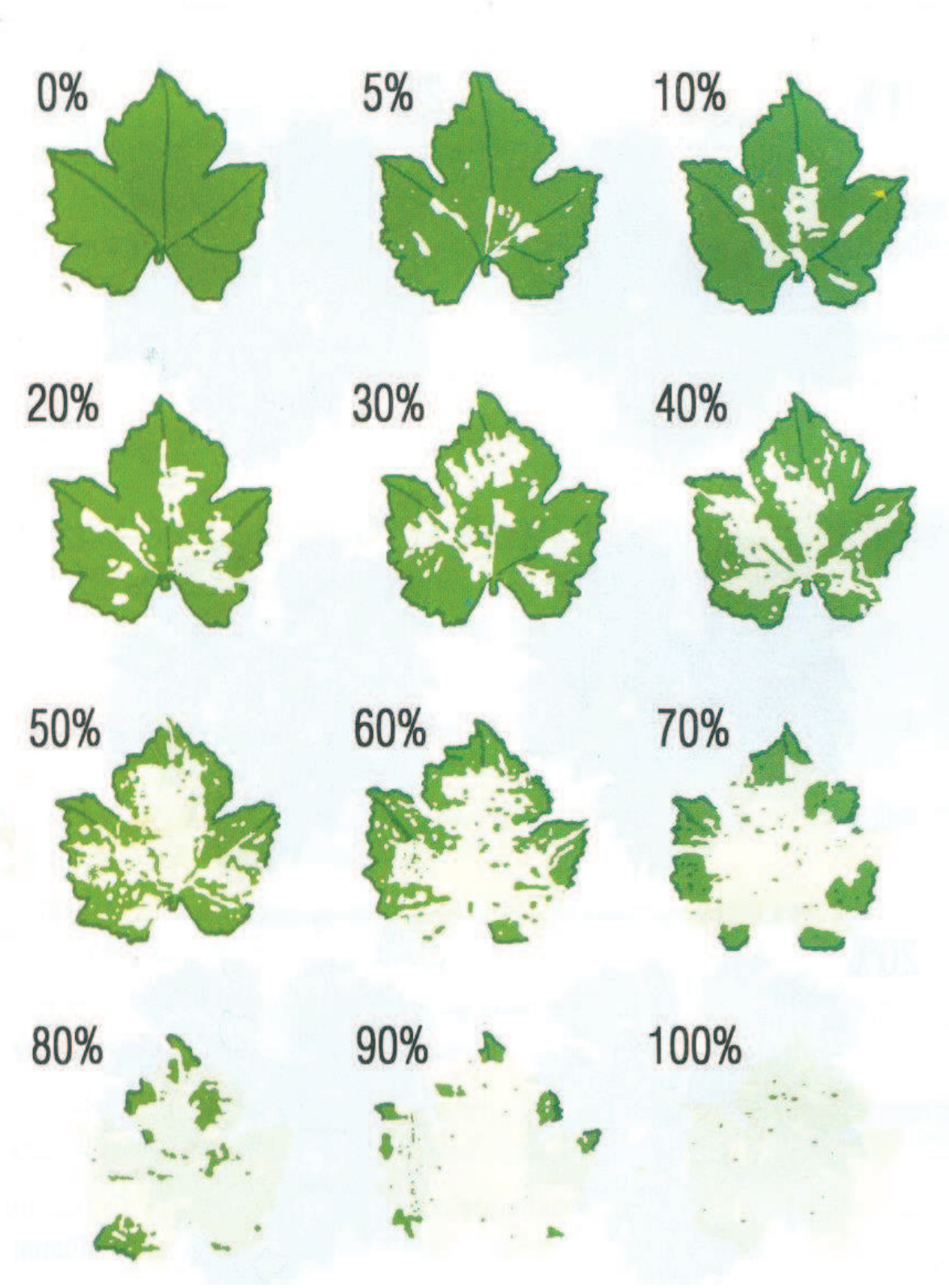


Figura 11A: Escala diagramática para a avaliação do míldio da videira expressa pela porcentagem de área lesionada AZEVEDO (1997).