

## Resumo

Na proteção de uva 'Itália' pós-colheita contra *Botrytis cinerea* avaliou-se *in vivo* o efeito direto e indireto dos extratos aquosos dos cogumelos *Agaricus blazei* e *Lentinula edodes* através do tratamento dos cachos antes ou após a inoculação com o patógeno. Para tanto se realizaram dois ensaios: 1) cachos de uva foram inoculados e, após 4 h, aspergidos com diferentes concentrações dos extratos dos basidiocarpos (0,0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 ou 40,0%); 2) cachos foram, ou não, aspergidos com extrato de *A. blazei* (5,0%) 24, 48, 72 ou 96 h antes da inoculação do fungo. Para inoculação, em cada cacho foram feridas 10 bagas, fazendo-se um furo por baga de  $\pm 2$  mm de profundidade, procedendo-se em seguida, a aspersão da suspensão de conídios ( $\pm 10^5$  conídios mL<sup>-1</sup>). Após os tratamentos, os cachos foram mantidos a 25 $\pm$ 1 °C/80-90% UR e avaliados diariamente quanto à incidência e severidade da podridão. O efeito *in vitro* dos extratos de *A. blazei* e *L. edodes* no controle do patógeno foi avaliado com o intuito de verificar se tais agentes exercem efeito direto sobre o crescimento micelial e a germinação de conídios de *B. cinerea*. Os resultados mostraram que os extratos de *A. blazei* e *L. edodes* não controlaram a podridão causada por *B. cinerea* em uva 'Itália', quando aplicados antes ou após a inoculação do fungo. Nos ensaios *in vitro*, ambos os extratos dos basidiocarpos estimularam a germinação dos conídios de *B. cinerea* nas concentrações testadas; quanto ao crescimento micelial, *L. edodes* retardou, enquanto *A. blazei* estimulou.

**Palavras-chave:** *Vitis vinifera*; uva de mesa; *Botrytis cinerea*

## Extrato de *Agaricus blazei* e *Lentinula edodes* no controle pós-colheita de mofo cinzento em uva 'Itália'

Elisângela Clarete Camili<sup>1</sup>; Eliane Aparecida Benato<sup>2</sup>; Sérgio Florentino Pascholati<sup>3</sup>; Patrícia Cia<sup>4</sup>

## Extracto de *Agaricus blazei* y *Lentinula edodes* en el control de podredumbre gris en uva Itália

## Resumen

En la protección de uva 'Italia' en postcosecha contra la *Botrytis cinerea* se evaluó *in vivo* los efectos directos e indirectos de los extractos acuosos de la seta *Agaricus blazei* y *Lentinula edodes* por el tratamiento de los racimos antes o después de la inoculación con el patógeno. Para ello se realizaron dos pruebas: 1) los racimos de uva fueron inoculados y, después de 4 h, rociados con diferentes concentraciones de los extractos de basidiocarpos (0.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0 o 40, 0%), 2) rácimos fueron o no, rociados con extractos de *A. blazei* (5,0%) 24, 48, 72 o 96 h antes de la inoculación del hongo. Para la inoculación, en cada racimo fueran heridos 10 bayas, haciéndose un hueco de  $\pm 2$  mm de profundidad, procediendo a continuación, rociar la suspensión de conidios (105 conidios mL<sup>-1</sup>). Después del tratamiento, los grupos se mantuvieron a 25 $\pm$ 1 °C/80-90% de humedad relativa y fue evaluado diariamente la incidencia y severidad de podredumbre. Lo efecto *in vitro* de extractos de *A. blazei* y *L. edodes* en el control del patógeno fue evaluado para determinar si estos agentes ejercen un efecto directo sobre el crecimiento micelial y la germinación de conidias de *B. cinerea*. Los resultados mostraron que los extractos de *A. blazei* y *L. edodes* no pudieran controlar la pudrición causada por *B. cinerea* en uva 'Italia', cuando se aplica antes o después de la inoculación del hongo. *In vitro*, los extractos de los basidiocarpos estimulan la germinación de las esporas de *B. cinerea* en las concentraciones ensayadas; en relación a lo crecimiento del micelio, *L. edodes* se ha retrasado, mientras que *A. blazei* estimulado.

**Palabras llave:** *Vitis vinifera*; uva de mesa; *Botrytis cinerea*

1 Professor Adjunta\* of the department of Phytotechny and Phytosanity of the Faculty of Agronomy, Veterinary Medicine and Zootechny of the Federal University of Mato Grosso/UFMT. Av. Fernando Corrêa, 2367, Boa Esperança, 78060-900, Cuiabá/MT. ecamili@hotmail.com

2 Scientific Researcher of the Institute of Food Technology – ITAL. Av. Brasil, 2880, Jd. Chapadão, 13070-178, Campinas/SP. benato@ital.sp.gov.br

3 Professor Associated of the Department of Phytopathology of the Superior School of Agriculture "Luiz de Queiroz" - ESALQ/USP. Av. Pádua Dias, 11, CP. 09, 13418-900, Piracicaba/SP. sfpascho@esalq.usp.br

4 Scientific Researcher of the Agricultural Institute of Campinas – IAC. Rod. D. Gabriel P. B. Couto, Km 65, CP. 26, 13201-970, Jundiaí/SP. pcia@iac.sp.gov.br

\*Brazilian academic degree

## Introdução

O desenvolvimento de fungos, especialmente *B. cinerea*, durante o armazenamento e transporte das uvas de mesa é responsável por perdas pós-colheita significativas em todas as regiões produtoras do mundo (BULIT e DUBOS, 1990; DIAS et al., 1998; ZAHAVI et al., 2000). Por melhor que seja o tratamento fitossanitário efetuado no campo, o mesmo não é suficiente para dispensá-lo na pós-colheita (ZOFFOLI et al., 1999). Por essa razão, o SO<sub>2</sub> é empregado no controle das podridões de pós-colheita de uvas de mesa combinado ao armazenamento sob baixas temperaturas (BULIT e DUBOS, 1990; ZOFFOLI et al., 1999; ZAHAVI et al., 2000). Porém, dependendo do cultivar, temperatura e umidade de armazenamento, entre outros fatores, o SO<sub>2</sub> pode apresentar diferenças quanto à eficiência e níveis de resíduo, cujo limite de tolerância é de 10 µg g<sup>-1</sup> (FDA, 2003). Ainda é necessário considerar que as preocupações dos consumidores tornam-se crescentes sobre o resíduo de SO<sub>2</sub> nas uvas frescas e sobre seu potencial fitotóxico (LYDAKIS e AKED, 2003).

Neste sentido, a ênfase em proteção de frutos pós-colheita contra podridões tem sido desviada do uso de produtos químicos para técnicas alternativas de controle, que garantam a segurança do produto e não coloquem em risco a saúde das pessoas (ROMANAZZI et al., 2002), minimizando ou substituindo o uso de fungicidas nos frutos.

Comumente conhecido como “Shiitake”, existem trabalhos que mencionam compostos oriundos de *L. edodes* com ação sobre patógenos de plantas e animais. Piccinin (2000) demonstrou que o filtrado do píleo de *L. edodes* possui efeito bacteriostático, enquanto que o filtrado da estipe e do crescimento micelial foram bactericidas sobre *Xanthomonas campestris* pv. *Passiflorae*. Ishikawa et al. (2001) também verificaram o efeito bacteriostático de 35 isolados de *L. edodes* no crescimento de *Bacillus subtilis*. Preparações obtidas a partir de *L. edodes* reduziram o número de lesões causadas pelo *Tobacco mosaic virus* (TMV) em meias-folhas de fumo e ocasionaram inibição total do crescimento da bactéria *X. campestris* pv. *passiflorae*, *in vitro*; no entanto, quando autoclavados, os filtrados perderam

completamente a atividade inibitória da multiplicação da bactéria (TONUCCI e PASCHOLATI, 2003).

No tocante ao efeito sobre fungos fitopatogênicos, os extratos obtidos a partir do crescimento micelial de *L. edodes*, incorporados em meio de cultivo a 100, 200 e 300 µL mL<sup>-1</sup>, inibiram o desenvolvimento *in vitro* dos fungos *Helminthosporium* sp., *Fusarium solani* e *Phomopsis sojae* (SASAKI, 1997). Piccinin (2000) mostrou que o filtrado obtido a partir do crescimento vegetativo de *L. edodes*, bem como os extratos obtidos a partir do píleo e da estipe do cogumelo, reduziram significativamente o crescimento micelial de *Exserohilum turcicum* e *Colletotrichum sublineolum* a partir da concentração de 1% (v/v) no meio de cultivo. A 2%, os preparados reduziram a esporulação dos patógenos. Di Piero (2003) verificou que *L. edodes* reduz em mais de 50% a severidade da antracnose causada por *Colletotrichum lagenarium*, em plantas de pepino mantidas em casa de vegetação, quando filtrados de basidiocarpo a 20% foram aplicados no hospedeiro, além de induzir acúmulo local e sistêmico de peroxidase e quitinase, mas não de β-1,3-glucanase.

Por sua vez, as pesquisas envolvendo o cogumelo *A. blazei* (“Cogumelo-do-Sol”) e o seu possível uso fitopatológico estão se iniciando. Constatou-se que filtrados de *A. blazei* provocaram redução de 80% na incidência da doença causada pelo vírus do endurecimento dos frutos (PWV) em maracujazeiro, no entanto, notou-se apenas proteção local, provavelmente substâncias antivirais produzidas pelo cogumelo afetaram a infectividade do PWV (DI PIERO e PASCHOLATI, 2002). Extratos de *A. blazei*, em diferentes concentrações, com um intervalo entre a aplicação e a inoculação de quatro dias, mostrou apenas um efeito local na redução da severidade da antracnose em pepino (DI PIERO, 2003).

Fiori-Tutida et al. (2002), verificaram o efeito positivo do extrato bruto de *L. edodes* na inibição da germinação de esporos de *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. Entretanto, o extrato bruto obtido a partir de *A. blazei* não inibiu a germinação de esporos de *Bipolaris sorokiniana*; porém, ambos os extratos foram capazes de induzir o acúmulo de fitoalexinas em cotilédones de soja.

Silva et al. (2007) verificaram que isolados de *L. edodes* e de *A. blazei* não exerceram efeito inibitório direto no crescimento da bactéria *Ralstonia solanacearum*, agente causal da murcha bacteriana em tomate. No entanto, em casa-de-vegetação, verificou-se que plantas tratadas dois dias antes da inoculação com o isolado LE-96/17 de *L. edodes* na concentração de 10% (v/v) tiveram redução significativa na ocorrência de murcha. Ainda, LE-96/17 e ABL-26 de *Agaricus blazei* ocasionaram aumentos na atividade da enzima peroxidase e, com base nos resultados, os autores concluem que o cogumelo *L. edodes* apresenta potencial para reduzir a murcha bacteriana, provavelmente, através da indução de resistência.

Para infecções quiescentes, como a causada por *B. cinerea*, onde o inóculo provém do período pré-colheita, antes que um tratamento pós-colheita possa ser aplicado, microrganismos antagonistas podem ser promissores como “fungicidas vivos” no controle das doenças (WILSON et al., 1991; KOOMEN e JEFFRIES, 1993).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito curativo e protetivo dos extratos dos basidiocarpos *L. edodes* e *A. blazei* em uva ‘Itália’ contra *B. cinerea* na pós-colheita. Os efeitos *in vitro* dos extratos sobre o crescimento micelial e a germinação de conídios do fungo também foram investigados.

## Material e métodos

### Inoculação de *Botrytis cinerea* em cachos de uva ‘Itália’

O patógeno de interesse (*B. cinerea*) foi isolado a partir de uvas com sintomas de mofo cinzento, procedentes de vinhedos do estado de São Paulo. Para inoculação, em cada cacho de uva foram feridas 10 bagas, fazendo-se um furo por baga de  $\pm 2$  mm de profundidade, com o auxílio de uma micro-seringa (Hamilton Co., Reno, Nevada, 100  $\mu$ L). Depois de realizado o ferimento, os cachos foram inoculados por aspersão de suspensão de esporos, na concentração de  $\pm 10^5$  conídios  $\text{mL}^{-1}$ , de acordo com metodologia descrita por Romanazzi et al. (2002), com algumas modificações.

### Aspersão dos cachos com os extratos dos basidiocarpos

As amostras do pó seco do basidiocarpo dos cogumelos *Agaricus blazei* (Murril) ss. Heinem (linhagem ABL 29/99) e *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler (linhagem LE 96/17), foram cedidas pelo Núcleo de Produção de Cogumelos da Faculdade de Ciências Agronômicas/UNESP, Campus de Botucatu/SP. Para a obtenção dos extratos aquosos, o pó seco do basidiocarpo dos cogumelos foi suspenso em água destilada (14  $\text{mL g}^{-1}$ ) e, após 24 h de incubação à 10°C, as amostras foram filtradas à vácuo, utilizando-se papel-filtro Whatman n° 1 e centrifugadas a 20.000 g por 25 min. Em seguida, o sobrenadante foi filtrado em membrana tipo Millipore (diâmetro do poro = 0,2  $\mu\text{m}$ ), sob condições assépticas. Os filtrados esterilizados (extratos aquosos concentrados) foram armazenados em geladeira à 10°C e utilizados para as diluições. Extrato aquoso à 10% v/v (10 mL de extrato concentrado + 90 mL de água destilada) representa:  $[(1000 \text{ mg } 14 \text{ mL}^{-1}) \cdot 10\%] = 7,15 \text{ mg do pó seco de basidiocarpo mL}^{-1}$ .

Para avaliação do efeito direto (curativo) dos extratos sobre o patógeno, no primeiro ensaio, cachos de uva ‘Itália’ maduros ( $>15$  °Brix), provenientes do município de São Miguel Arcaño/SP, foram inoculados, conforme descrito acima e, após quatro horas, aspergidos com diferentes concentrações dos extratos dos basidiocarpos (0,0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 ou 40,0%). Com o objetivo de avaliar o potencial do extrato de *A. blazei* em proteger cachos de uva contra *B. cinerea*, no segundo ensaio, os cachos foram ou não aspergidos (5,0%) 24, 48, 72 ou 96 h antes da inoculação do fungo. Após a inoculação os cachos foram acondicionados em caixas de papelão e armazenados a  $25 \pm 1$  °C/80-90% UR por um período de 6 e 4 dias no primeiro e segundo ensaios, respectivamente, para as avaliações da doença.

Avaliações de incidência (número de bagas infectadas) e severidade (porcentagem da área da baga infectada, determinada através de escala de notas) foram realizadas diariamente nas 10 bagas inoculadas de cada cacho. A escala de notas adotada para avaliação da severidade da podridão variou de 1 a 6 e foi elaborada com base na área da lesão, correspondendo a aproximadamente  $<0,2$ ;

0,5; 1,0; 2,0 e >3,0 cm<sup>2</sup> da área da baga lesionada, equivalendo a 2, 5, 10, 20, 30 e 50% da área, respectivamente. Os resultados foram expressos em índice de doença calculado através da fórmula: ID(%) =  $\{[(n_1 \times 1) + \dots + (n_6 \times 6)] \times (6 \times N)^{-1}\} \times 100$ , onde,  $n_{1...6}$  = n° de bagas infectadas com a respectiva nota e N = n° total de bagas inoculadas.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com 10 repetições e um cacho de uva como unidade experimental. Para avaliação do segundo experimento adotou-se o arranjo fatorial (2x4). Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Para efeito de análise estatística, as médias foram transformadas em  $\sqrt{x+0,5}$ . Além da comparação de médias, análises de regressão foram realizadas para verificar a relação entre dose e índice de doença.

#### Efeito *in vitro* dos extratos de *Agaricus blazei* e *Lentinula edodes* sobre *Botrytis cinerea*

Para avaliação do efeito dos extratos dos cogumelos na germinação dos conídios de *B. cinerea*, placas de poliestireno contendo meio de cultivo Ágar-Água foram divididas em quatro quadrantes, onde cada quadrante recebeu uma gota de suspensão de esporos ( $\pm 10^5$  conídios mL<sup>-1</sup>), adicionada dos extratos aquosos dos basidiocarpos a 0,0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 ou 40,0%. Cada parcela foi representada por uma placa, sendo utilizadas dez repetições por tratamento, as quais foram mantidas no escuro a  $\pm 22$  °C até a germinação dos conídios. Na avaliação, contou-se 50 conídios por quadrante, após 8, 24, 32, 48 e 56 h, pela observação em microscópio óptico. O conídio foi considerado germinado quando o tubo germinativo apresentou tamanho igual ou superior ao maior diâmetro do conídio (MERCIER et al., 2001).

Com o intuito de verificar o efeito dos cogumelos no crescimento micelial do patógeno, os extratos aquosos de basidiocarpos foram incorporados em meio Batata-Dextrose-Ágar (BDA) acrescido de antibiótico (clorotetraciclina - 100 µg mL<sup>-1</sup> + cloranfenicol - 100 µg mL<sup>-1</sup>) à 45 °C, nas proporções de 0,0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 ou 40,0% e, vertidos em placas de poliestireno. Discos de micélio de 3 mm de diâmetro, retirados da borda de colônias com três dias de cultivo, foram transferidos para o centro das placas

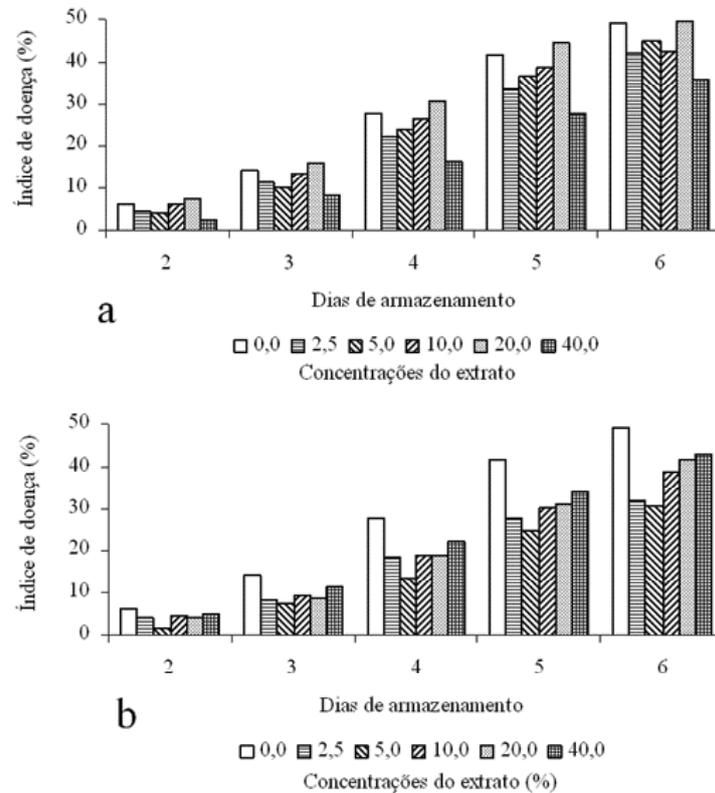
as quais foram mantidas a  $\pm 22$  °C sob alternância de luz (12 h). O crescimento micelial do fungo foi determinado diariamente, medindo-se o diâmetro da colônia em duas direções opostas, até que a colônia de um dos tratamentos atingisse a borda da placa (TERRY e JOYCE, 2000). Um número de sete e seis repetições, respectivamente, para *A. blazei* e *L. edodes* foi utilizado.

## Resultados e discussão

Observando-se a Figura 1, verifica-se que as diferentes concentrações dos extratos dos cogumelos *A. blazei* ou *L. edodes* aplicados em uva 'Itália', após 4 h da inoculação com *B. cinerea*, não diferiram estatisticamente quanto ao índice de doença. Contudo, notam-se os menores valores de ocorrência de podridão nos cachos tratados com extrato de *A. blazei* a 5,0% ao longo dos dias de avaliação - redução essa observada para o extrato do cogumelo *L. edodes* apenas na maior concentração (40,0%). O extrato de *A. blazei* nas concentrações até 20,0% foi mais eficiente que o de *L. edodes* na redução do mofo cinzento em uva.

Extratos de *L. edodes* e de *A. blazei* conferiram proteção local em plantas de maracujazeiro contra o vírus do endurecimento dos frutos (PWV) (DI PIERO, 2003). O autor afirma que os extratos destes dois cogumelos podem ativar mecanismos de defesa vegetal contra o vírus do endurecimento dos frutos (PWV), mas não em magnitude suficiente para proteger uma espécie de interesse econômico que é invadida sistemicamente pela virose. Da mesma forma que o obtido no patossistema em estudo (*B. cinerea* - uva 'Itália'), o autor observou que isolados de *L. edodes* proporcionaram uma proteção menor em relação à conferida por isolados de *A. blazei* em maracujazeiro. Além disso, a proteção foi dependente da concentração do extrato e do intervalo de tempo entre o tratamento e a inoculação; concentrações de extrato de *L. edodes* inferiores a 40,0% não foram eficientes em reduzir a incidência da virose; dados semelhantes aos obtidos neste trabalho.

Os resultados do índice de doença em cachos de uva tratados com extrato do cogumelo *A. blazei* (5,0%), 24, 48, 72 ou 96 antes da inoculação dos cachos com *B. cinerea* (segundo ensaio) estão



**Figura 1.** Índice de doença causada por *Botrytis cinerea* em cachos de uva 'Itália', inoculados e após 4 h tratados com diferentes concentrações do extrato de *Agaricus blazei* (a) ou *Lentinula edodes* (b). Médias não diferiram estatisticamente entre si (Tukey  $P \leq 0,05$ ). Dados originais foram transformados em  $\sqrt{x + 0,5}$ , para análise estatística.

apresentados na Tabela 1.

Constata-se que o intervalo de tempo entre o tratamento e a inoculação exerceu maior influência sobre o índice de doença causada por *B. cinerea* do que o fator tratamento (com ou sem extrato). Quanto ao fator tratamento, verifica-se que a aplicação do extrato aquoso de *A. blazei* não resultou em proteção eficiente da uva contra o patógeno, tendo em vista que, quando aplicado 24, 48 ou 96 h antes da inoculação, o índice de doença não diferiu estatisticamente dos respectivos controles (sem extrato) e, ainda, quando aplicado 72 h antes da inoculação, o índice de doença foi significativamente maior que o controle. Contudo, cachos de uva tratados com *A. blazei* 96 h antes da inoculação apresentaram valores médios de índice de doença significativamente menores do que cachos tratados 72 h antes da inoculação com *B. cinerea*.

Os resultados obtidos por Camili et al. (2007) ao avaliarem o efeito da solução de quitosana, nas concentrações de 1,5 e 2,0% (v/v), empregada antes da inoculação com *B. cinerea*, corroboram com os apresentados neste trabalho, pois não obtiveram resposta significativa do tratamento sobre o desenvolvimento do mofo cinzento em uva 'Itália'; no entanto, outros autores afirmam que a quitosana ativa respostas de defesa no tecido vegetal.

Assim sendo, novas pesquisas deverão ser conduzidas com o objetivo de se explorar melhor a viabilidade do uso dos extratos dos basidiocarpos de *L. edodes* e *A. blazei*, uma vez que estes têm demonstrado resultados satisfatórios em outras espécies vegetais. Talvez não só o uso dos extratos brutos, mas também frações obtidas a partir destes extratos possam ser utilizadas isoladamente, ou em

**Tabela 1.** Efeito do extrato de *Agaricus blazei* (5,0%), sobre o índice de doença (%) em cachos de uva 'Itália', inoculados com *Botrytis cinerea* após o tratamento e, armazenados a 25±1 °C / 80-90% UR.

	Tratamentos	24 h	48 h	72 h	96 h	Média	
2x	Com <i>Agaricus</i>	10,17 <sup>y</sup> Aa	9,84 ABa	12,84 Aa	5,30 Ba	**	9,53 a
	Sem <i>Agaricus</i>	12,00 Aa	10,00 ABa	6,83 Bb	7,00 ABa	*	8,96 a
		ns	ns	**	ns		
	Média	11,08 A	9,92 A	9,83 A	6,15 B		
			**				
	C.V. (%)		23,76				
3	Tratamentos	24 h	48 h	72 h	96 h	Média	
	Com <i>Agaricus</i>	22,00 ABa	22,35 ABa	32,67 Aa	14,67 Ba	**	22,92 a
	Sem <i>Agaricus</i>	30,00 Aa	23,67 Aa	19,34 Ab	17,67 Aa	ns	22,67 a
		ns	ns	**	ns		
	Média	26,00 A	23,01 AB	26,00 A	16,17 B		
			*				
	C.V. (%)		25,32				
4	Tratamentos	24 h	48 h	72 h	96 h	Média	
	Com <i>Agaricus</i>	41,83 ABa	48,83 ABa	57,67 Aa	29,00 Ba	**	44,33 a
	Sem <i>Agaricus</i>	49,50 Aa	43,33 Aa	34,83 Ab	34,17 Aa	ns	40,46 a
		ns	ns	**	ns		
	Média	45,67 A	46,08 A	46,25 A	31,58 A		
			*				
	C.V. (%)		22,42				

\* Dias de armazenamento.

<sup>y</sup> Média de dez repetições. Médias seguidas da mesma letra maiúscula na linha e, minúsculas na coluna, não diferem estatisticamente entre si (Tukey P≤0,05). Dados originais foram transformados em  $\sqrt{x+0,5}$ , para análise estatística.

<sup>z</sup> Significância do teste F da análise de variância para o efeito dos tratamentos sobre o índice de doença, n.s. = não significativo; \*, \*\* = significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente.

Interação = \*\*, \* e \*, para 2, 3 e 4 dias de armazenamento, respectivamente.

combinação com outros métodos de controle do mofo cinzento em uva, conforme o obtido por Di Piero et al. (2006), que ao fracionarem o extrato aquoso bruto de basidiocarpos de *L. edodes* obtiveram resultados positivos na redução da antracnose em cotilédones de pepino.

De modo significativo os extratos brutos de ambos os basidiocarpos estimularam a germinação dos conídios em todas as concentrações testadas (Figura 2), após 8 h de terem sido submetidos aos tratamentos. Dados semelhantes foram constatados por Piccinin (2000), que verificou, ao utilizar preparações de filtrado de basidiocarpo autoclavado de *L. edodes*, que houve um estímulo na germinação de esporos de *Colletotrichum sublineolum*. Fiori-Tutida et al. (2007) também verificaram que os extratos brutos aquosos de ambos os cogumelos não tiveram

efeito significativo na germinação de esporos de *B. sorokiniana*.

Segundo Di Piero (2003) os extratos dos basidiocarpos, principalmente os de *A. blazei*, estimularam a germinação *in vitro* de esporos de *C. lagenarium*, e provocaram aumento no comprimento do tubo germinativo desses esporos em relação aos que germinaram no tratamento controle. Além disso, os isolados LE 95/01 e LE 96/22 de *L. edodes*, testados a 10,0% (v/v), não apresentaram efeito *in vitro* sobre *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, quando esta foi empregada nas concentrações de 0,15 ou 0,05 unidades de absorvância (U.A.), enquanto os isolados ABL 97/11 e principalmente ABL 99/28 de *A. blazei* estimularam o crescimento bacteriano em ambas as concentrações, mostrando que, nestas situações, o aspecto nutricional dos extratos de basidiocarpos

superou qualquer composto antibiótico que pudesse estar presente nos mesmos.

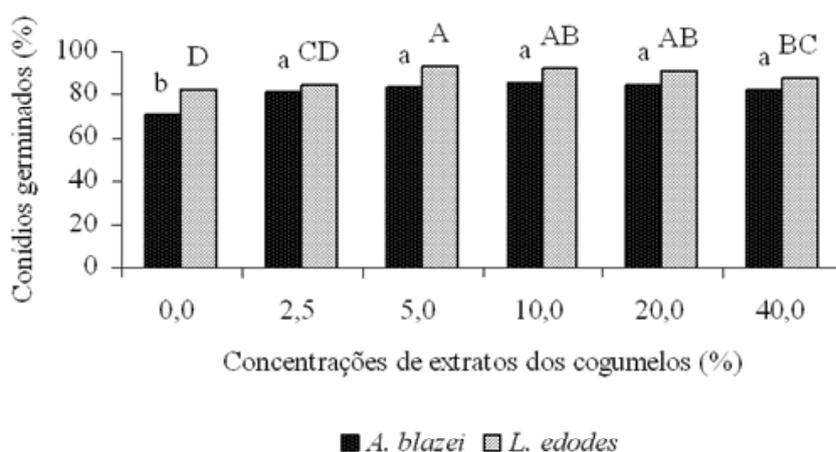
Adversamente, resultados positivos foram obtidos por Fiori-Tutida et al. (2007), em que os extratos dos cogumelos reduziram a germinação de esporos de *P. recondita* f. sp. *tritici*, com destaque para o isolado LE 96/17 de *L. edodes* que apresentou inibição da ordem de 52,4%. Além disso, Fiori-Tutida et al. (2001; 2002) verificaram o efeito do extrato bruto de *L. edodes* na inibição da germinação de esporos de *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*; entretanto, o extrato bruto obtido a partir do *A. blazei* não inibiu a germinação de esporos de *B. sorokiniana*, embora ambos os extratos tenham sido capazes de induzir o acúmulo de fitoalexinas em cotilédones de soja.

A avaliação do efeito dos extratos dos basidiocarpos sobre o crescimento micelial de *B. cinerea* revelou que, *A. blazei*, assim como no teste de germinação dos conídios, estimula o crescimento micelial do patógeno em doses superiores a 2,5% de modo significativo, porém, com 96 h todos os tratamentos assemelharam-se ao controle (Figura 3a). Uma das hipóteses para explicar o estímulo, tanto na germinação dos conídios como no crescimento micelial seria a presença não só de proteínas de alto valor biológico encontradas na composição dos cogumelos, como também de vitaminas e elementos químicos tais como fósforo, magnésio, cálcio, ferro, entre outros (URBEN e OLIVEIRA, 1998).

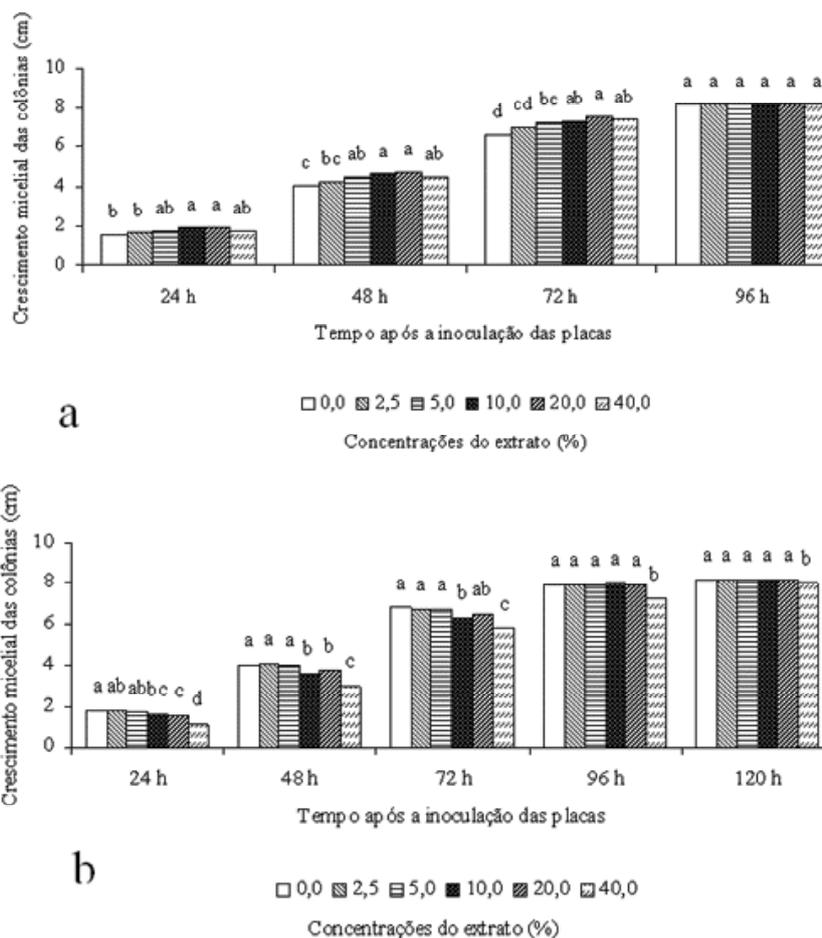
Por conseguinte, *L. edodes* mostrou-se eficiente em retardar o crescimento micelial de *B. cinerea* na dose igual ou superior a 10,0%, mas o efeito da concentração se tornou menos significativo com o passar do tempo, uma vez que, 96 h após a inoculação das placas, apenas a concentração de 40,0% diferiu da testemunha (Figura 3b).

Estes resultados vão ao encontro aos apresentados por Di Piero (2003), em que extratos aquosos de *L. edodes*, incorporados ao BDA a 5,0%, reduziram o crescimento micelial de *C. lagenarium*, porém, o efeito apesar de significativo estatisticamente, foi pouco pronunciado. A 10,0%, não houve efeito dos extratos de *L. edodes*, bem como de *A. blazei* sobre o crescimento micelial do fitopatógeno. Para Fiori-Tutida et al. (2007) os extratos brutos aquosos de ambos os cogumelos não tiveram efeito significativo no crescimento micelial de *B. sorokiniana*.

Verifica-se, de modo geral, que o extrato de *A. blazei* não inibiu o crescimento micelial e a germinação de conídios de *B. cinerea*, *in vitro*, porém, os resultados obtidos no ensaio 2, *in vivo*, onde o extrato do basidiocarpo foi aspergido em cachos de uva 'Itália' mostram controle da doença, embora não significativo, quando aplicado 96 h antes dos cachos serem inoculados com o patógeno. Isso indica uma possível ativação de mecanismos de resistência no tecido dos frutos.



**Figura 2.** Efeito de diferentes concentrações de extratos dos cogumelos, *in vitro*, sobre a germinação de conídios de *Botrytis cinerea*, após 8 h. Médias seguidas de mesma letra, minúscula para *Agaricus blazei* e maiúscula para *Lentinula edodes*, não diferem significativamente entre si (Tukey  $P \leq 0,05$ ).



**Figura 3.** Efeito de diferentes concentrações de extratos do *Agaricus blazei* (a) e *Lentinula edodes* (b) sobre o crescimento micelial de *Botrytis cinerea*. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si (Tukey  $P \leq 0,05$ ).

## Conclusão

Extratos dos cogumelos *Agaricus blazei* e *Lentinula edodes* não controlam a podridão causada por *B. cinerea* em cachos de uva 'Itália', quando aplicados após a inoculação. Enquanto o extrato de *A. blazei*, a 5,0%, aplicado 96 h antes da inoculação das uvas com *B. cinerea*, reduz levemente a severidade da podridão, embora não significativo estatisticamente.

*In vitro*, ambos os extratos dos basidiocarpos estimularam a germinação dos conídios de *B. cinerea* nas concentrações testadas; quanto ao crescimento micelial, *L. edodes* retarda, enquanto *A. blazei* estimula.

## Referências

Apresentadas no final da versão em inglês.