

Fungos comestíveis e microbiota nativa no controle do nematoide formador de galhas

Comestible fungi and native microbiota in the control of gall-forming nematodes

Igor Victor de Santana-Santos¹, Nikolas Emanuel Chaves-Silva¹, Lucas Henrique da Silva Amâncio¹,
Wagner Batista dos Santos², Pedro Roberto Almeida Viêgas³, Regina Helena Marino⁴

RESUMO: Na agroecologia, os fungos filamentosos vêm sendo uma alternativa na produção de compostos orgânicos e controle de patógenos, mas pouco se conhece da interação de fungos comestíveis com a microbiota nativa do solo no controle de fitonematoides. Os objetivos deste trabalho foram avaliar a ação nematocida e/ou nematostática do filtrado do meio de cultivo do cogumelo Shiitake (*Lentinula edodes*) sobre o estágio J2 do nematoide formador de galhas (*Meloidogyne incognita*) *in vitro*, bem como analisar o controle desse nematoide e o crescimento da alface cv. 'Saia Véia' com o uso do inoculante fúngico associado à microbiota nativa em estufa agrícola. Os filtrados LED AJU1 e LED CHI apresentam atividade nematostática, enquanto os filtrados LED AJU3 e LED CHI apresentam ação nematocida. O substrato colonizado por LED REC1 apresenta atividade nematocida contra *M. incognita*. A colonização por fungos micorrízicos arbusculares e por fungos endofíticos "dark septate" influencia no crescimento das plantas de alface cv. 'Saia Véia' cultivadas com inoculantes do cogumelo Shiitake, mas não interfere na redução do número de galhas.

Palavras-chave: Fungicultura. *Lentinula edodes*. Nematocida biológico.

ABSTRACT: In agroecology, filamentous fungi are an alternative in the production of organic compounds and in pathogen control. However, few studies are extant on the interaction between comestible fungi and soil's native microbiota for the control of phytonematodes. Current study evaluates the nematode and/or nematostatic activity of the filtrate in Shiitake mushrooms (*Lentinula edodes*) culture on stage J2 of the gall-forming nematode (*Meloidogyne incognita*) *in vitro*, and analyzes control of the nematode and growth of lettuce cv. 'Saia Véia' by fungus inoculant associated with native microbiota in an agricultural hothouse. Filtrates LED AJU1 and LED CHI showed nematostatic activity, whereas filtrates LED AJU3 and LED CHI had a nematocide activity. Substrate colonized by LED REC1 revealed nematocide activity against *M. incognita*. Colonization by arbuscular mycorrhized fungi and by endophytic dark septate fungi affects the growth of lettuce cv. 'Saia Véia' cultivated with inoculants of mushroom Shiitake, but fails to interfere with a decrease in gall number.

Keywords: Biological nematocide. Fungiculture. *Lentinula edodes*.

Autor correspondente:

Regina Helena Marino: rebmarino@hotmail.com

Recebido em: 10/09/2020

Aceito em: 24/02/2021

INTRODUÇÃO

Os nematoides *Meloidogyne* sp. são animais invertebrados, polípagos, cosmopolitas e apresentam uma relação de parasitismo altamente especializado como observado entre as espécies *M. incognita* e *M. javanica* e as cultivares de alface (PINHEIRO *et al.*, 2013).

Nas plantas, o *Meloidogyne* ao se reproduzir realiza a postura de 400 a 600 ovos em massas gelatinosas. No ovo, após completada a embriogênese, o juvenil de primeiro estágio (J1) sofre ecdise e

¹ Graduandos em Engenharia Agrônoma, Departamento de Engenharia Agrônoma, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão (SE), Brasil.

² Engenheiro Agrônomo, Departamento de Engenharia Agrônoma, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão (SE), Brasil.

³ Professor Titular, Doutor em Fitotecnia, Departamento de Engenharia Agrônoma, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão (SE), Brasil.

⁴ Professora Associada III, Doutora em Biotecnologia, Departamento de Engenharia Agrônoma, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão (SE), Brasil.

eclode como J2, o estágio considerado infectante e é responsável por causar danos mecânicos e tóxicos no tecido vegetal. O J2 move-se pelo córtex até a zona de diferenciação celular e promove a formação de células nutridoras ou gigantes, as quais são responsáveis pela produção e pelo armazenamento de alimentos. As modificações fisiológicas e morfológicas nos estádios juvenis ocorrem desde o início da alimentação até a fase adulta. O macho é sempre filiforme e migrador, enquanto a fêmea é sedentária por se alimentarem por meio de células gigantes, serem imóveis e se desenvolvem de forma globosa. De forma simultânea à formação das células nutridoras ocorre o engrossamento das raízes, denominado de galhas na maioria das espécies de *Meloidogyne* (FERRAZ; BROWN, 2016).

No Estado de Sergipe, a alface 'Saia Véia', pertencente ao grupo lisa, sendo a principal cultivar plantada na região pela aceitação entre os consumidores, é suscetível ao *M. incognita*, o que promove redução do comprimento das raízes e do número de raízes secundárias, bem como pode ser observado o nanismo, o amarelecimento das folhas, a formação de cabeças menores, mais leves e com maior número de folhas soltas e murchas (PINHEIRO *et al.*, 2013).

No solo, os inimigos naturais de fitonematoides podem ser fungos predadores (*Arthrobotrys* e *Monacrosporium*), fungos e bactérias parasitas de ovos e de fêmeas (*Paecilomyces*, *Pochonia* e *Pasteuria* sp.), fungos produtores de metabólitos tóxicos (*Fusarium* e *Trichoderma*), bactérias endofíticas (*Acinobacter*) e rizobactérias (*Bacillus* e *Pseudomonas*) (FERRAZ; BROWN, 2016; SILVA *et al.*, 2002). De forma alternativa, o substrato colonizado por fungos comestíveis, como *Agaricus bisporus* e *Pleurotus* sp., também reduz a eclosão dos ovos e aumenta a mortalidade do estágio J2 do nematoide *M. incognita* (ASLAM; SAIFULLAH, 2013). Segundo Mamiya (2006), o micélio dos fungos *Pleurotus* spp., *Lentinula edodes* e *Lampteromyces japonicus* apresentou ação atrativa e nematicida sobre o nematoide *Bursaphelenchus xylophilus* (MAMIYA, 2006).

Os extratos de cogumelos comestíveis também apresentaram ação nematicida e/ou nematostática sobre *Meloidogyne* sp., *Pratylenchus* sp. e *B. xylophilus* (SUFIAE *et al.*, 2017; SABOTI ; OHM; KÜNZLER, 2016). Especificamente, o filtrado do cogumelo *Lentinula edodes* promoveu mortalidade de 57,6% dos indivíduos do nematoide *Bursaphelenchus xylophilus* após 72h de incubação em meio de cultura.

Na literatura, outro aspecto pouco explorado é o emprego do substrato colonizado por fungos comestíveis como promotor de crescimento vegetal e no controle de patógenos, pois estes micro-organismos ao colonizarem os resíduos lignocelulolíticos aumentam a disponibilidade de nutrientes que podem estimular o ganho de biomassa vegetal (MARINO *et al.*, 2019; FONTALVO *et al.*, 2013) e interferir na atividade da microbiota nativa do solo e presente nas sementes, como os fungos endofíticos (SANTOS *et al.*, 2018).

No solo, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) são micro-organismos endofíticos simbiotes capazes de influenciar no controle de nematoides e no crescimento vegetal (HEIJDEN *et al.*, 2015; ANJOS *et al.*, 2010). Na interação FMA *versus* planta, esses micro-organismos também aumentam a área de absorção de água e de nutrientes devido à colonização interna e externa das raízes das plantas hospedeiras por hifas hialinas, cujos nutrientes são disponibilizados diretamente às plantas por hifas modificadas e efêmeras, denominadas de arbúsculos. As vesículas são estruturas de armazenamento de energia para algumas espécies fúngicas e podem interferir no desenvolvimento vegetal, a depender da relação arbúsculo/vesícula (CARDOSO; ANDREOTE, 2016; JALONEN *et al.*, 2013). Dessa forma, a colonização micorrízica por fungos endofíticos

nativos pode influenciar no controle de fitonematoides por estimular o crescimento de raízes e favorecer o processo de infecção ou reduzir a taxa de infecção da planta hospedeira pelo fitonematoide por induzir o sistema de defesa vegetal (SANTOS *et al.*, 2018; HEIJDEN *et al.*, 2015; ANJOS *et al.*, 2010).

Nas sementes e no solo, os fungos endofíticos de hifas hialinas ou melanizadas (“dark septate” - DSE) (GOIS *et al.*, 2019) são capazes de influenciar no crescimento das plantas e de outros organismos do solo, bem como de induzir a resistência das plantas hospedeiras a determinados patógenos (YAN *et al.*, 2015).

Desse modo, os objetivos deste trabalho foram avaliar a ação nematicida e/ou nematostática do filtrado do meio de cultivo do cogumelo Shiitake (*L. edodes*) sobre juvenis de segundo estágio (J2) do nematoide formador de galhas - *M. incognita* “in vitro”, bem como analisar o controle desse nematoide e o crescimento da alface cv. ‘Saia Véia’ com o uso do inoculante fúngico associado à microbiota nativa em estufa agrícola.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ATIVIDADE NEMATICIDA E NEMATOSTÁTICA DE FILTRADOS FÚNGICOS

O delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado composto pela avaliação do potencial nematicida e nematostático dos filtrados fúngicos sobre o estágio J2 de *M. incognita in vitro* em seis tratamentos: controle 1 (água destilada autoclavada), controle 2 (meio de cultura sem cultivo fúngico) e quatro filtrados do meio de cultivo dos isolados fúngicos (LED AJU1, LED AJU3, LED CHI e LED REC1) do cogumelo comestível Shiitake (*L. edodes*) com 18 repetições.

Os filtrados fúngicos foram obtidos segundo a patente BR 102018073957-3 (MARINO *et al.*, 2018) depositada no Instituto Nacional de Propriedade Industrial a partir dos resultados deste trabalho. Para obtenção dos filtrados fúngicos, 35 mL de meio de cultura a base de extrato de malte comercial (25 g L⁻¹) foram acondicionados em frascos Erlenmeyer, autoclavados a 121 °C e 1 atm durante 20 min. Após o resfriamento do meio foram transferidos dois discos miceliais de 6 mm de diâmetro dos isolados fúngicos multiplicados previamente em meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA comercial, 39 g L⁻¹). Nos controles 1 e 2 não foi realizada a inoculação fúngica. A incubação foi a 25 ± 1 °C sem fotoperíodo durante 28 dias e, em seguida, o micélio foi separado do meio de cultura através da filtração em papel de filtro Whatman n° 1 autoclavado, em câmara asséptica. Os filtrados foram armazenados a 4 °C em tubos de ensaio previamente autoclavados até a realização do bioensaio.

As massas de ovos do nematoide formador de galhas foram extraídas de plantas de alface cultivadas na Fazenda Experimental Campus Rural pertencente à Universidade Federal de Sergipe. A identificação da espécie do nematoide foi realizada por eletroforese no Laboratório de Nematologia da Universidade Federal de Lavras. Para extração das massas de ovos, as raízes das plantas de alface foram lavadas em água corrente e coradas com uma solução de Floxina B (0,15 g L⁻¹) por 20 min. Ao microscópio estereoscópico, e com auxílio de pinça, as massas de ovos foram transferidas para células da placa de Elisa contendo 100 µL de água destilada autoclavada e incubadas a 25 ± 1 °C sem fotoperíodo durante 32h para eclosão do estágio J2. Após esse período, o número de juvenis vivos, estáticos e mortos foi contabilizado (Tabela 1) e em seguida foram adicionados 100 µL de água destilada autoclavada (controle 1), 100 µL de meio de cultura (controle 2) ou 100 µL do filtrado fúngico por célula da placa de Elisa, conforme o tratamento e incubado a 25 ± 1 °C sem fotoperíodo.

Tabela 1. Número de juvenis de *Meloidogyne incognita* vivos, estáticos e mortos, por tratamento antes da adição dos filtrados fúngicos

Tratamentos	Vivos	Estáticos	Mortos	Total
Controle 1	15,4 ± 8,2	0,8 ± 1,1	1,0 ± 1,2	17,2 ± 7,2
Controle 2	20,0 ± 12,3	1,5 ± 1,5	1,6 ± 1,9	23,1 ± 12,7
LED AJU1	10,6 ± 9,4	6,7 ± 7,0	1,2 ± 1,1	18,5 ± 10,4
LED AJU3	10,7 ± 9,4	2,7 ± 1,9	1,1 ± 1,2	14,6 ± 7,5
LED CHI	16,7 ± 8,0	0,5 ± 0,9	0,6 ± 1,0	17,9 ± 8,7
LED REC1	8,4 ± 5,0	1,9 ± 1,9	1,4 ± 1,3	11,6 ± 6,2
Média	13,2 ± 8,5	2,5 ± 2,9	1,1 ± 1,3	16,8 ± 9,0

Após 22h da incubação foram analisadas as porcentagens de indivíduos J2 vivos, estáticos e mortos pela equação: $A (\%) = (B \times 100) / C$, em que: B = número final de J2 (vivos, estáticos ou mortos) e C = número inicial total de J2. Os dados foram transformados por e submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

2.2 FUNGOS COMESTÍVEIS E MICROBIOTA NATIVA NO CONTROLE DO NEMATOIDE FORMADOR DE GALHAS

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado composto pelo cultivo de mudas de alface cv. 'Saia Véia' em mistura de solo arenoso infestado pelo nematoide formador de galhas (*M. incognita*) em cinco tratamentos: controle (sem inoculação fúngica) e quatro inoculantes fúngicos (LED AJU1, LED AJU3, LED CHI e LED REC1) com cinco repetições.

O bioensaio foi realizado em vasos de 1 Kg com 800 g de solo arenoso, não autoclavado, infestado pelo nematoide formador de galhas e 200 g do inoculante. O inoculante fúngico foi produzido em substrato composto por 60% de pó de coco e 40% de farelo de trigo, umedecido com água destilada a 60-70%, acondicionado em frascos de 500 mL, autoclavado a 121 °C e 1 atm durante uma hora e repetido por uma vez. Após o resfriamento do substrato foi transferido um disco micelial de 6 mm de diâmetro dos isolados fúngicos previamente multiplicados em meio BDA comercial. No tratamento controle foi utilizado o mesmo substrato, mas sem inoculação fúngica. A incubação foi realizada a 28 ± 1 °C sem fotoperíodo até a completa colonização do substrato.

O solo arenoso infestado com o nematoide formador de galhas foi coletado a uma profundidade de até 20 cm, em uma área de cultivo de alface com esse nematoide na Fazenda Experimental Campus Rural, pertencente à Universidade Federal de Sergipe. A identificação da espécie do nematoide foi realizada pelo Laboratório de Nematologia da Universidade Federal de Lavras.

A cultivar de alface testada foi a 'Saia Véia', cujas sementes foram doadas por produtores orgânicos do município de Areia Branca, Sergipe, Brasil e armazenadas a 4 °C até a realização do bioensaio. As mudas de alface foram produzidas em substrato orgânico comercial e pó de coco na proporção 2:1 em estufa agrícola durante 22 dias. Após esse período, as mudas com dois pares de folhas definitivas foram transplantadas para vasos contendo uma mistura de solo arenoso infestado com nematoide (não autoclavado) e inoculante

fúngico (2:1). No controle foi utilizado solo arenoso infestado com nematoide (não autoclavado) e substrato inoculante (sem a colonização fúngica). O cultivo das mudas de alface foi realizado em estufa agrícola com irrigação por microaspersão por 30 dias após o transplântio.

No bioensaio foram analisados: o número de galhas, o número de massas de ovos e número de ovos de *M. incognita*, a porcentagem de inibição dos inoculantes sobre o número de galhas, presença de micro-organismos endofíticos ou fitopatogênicos nas sementes de alface, a presença de micro-organismos nativos no solo utilizado na mistura para o cultivo das mudas, a colonização e as estruturas micorrízicas (hifas, vesículas e arbúsculos), a colonização por fungos endofíticos “dark septate” (DSE), a altura da planta, o comprimento da raiz, a massa seca da parte aérea e da raiz, após 30 dias do transplântio das mudas.

O número de galhas e de massas foi determinado por grama de raiz, após a lavagem das raízes em água corrente e coradas com Floxina B por 20 min. Para determinação do número de ovos, por galhas, as massas de ovos foram transferidas para uma lâmina contendo água destilada, coberta com uma lamínula e pressionada para dispersão dos ovos. A contagem do número de ovos foi realizada ao microscópio óptico com aumento de até 400x.

A porcentagem de inibição dos inoculantes fúngicos sobre o número de galhas (PI-NG) do *M. incognita* foi determinada pela equação: $PI-NG (\%) = [(NGt \cdot 100) / NGc] - 100$, em que: NGt = número de galhas obtido no tratamento com o inoculante fúngico e NGc = número de galhas no controle.

Os micro-organismos presentes nas sementes e no solo de cultivo das mudas de alface foram identificados com base nas estruturas reprodutivas segundo Barnett e Hunter (1998). Para tanto, as sementes foram imersas em uma solução de álcool 70% por 1 min., 0,1% de hipoclorito de sódio por 1 min e seguida pela tríplice lavagem em água destilada autoclavada por 1 min cada (ALFENAS; MAFIA, 2007). As sementes desinfestadas foram transferidas individualmente para caixas Gerbox contendo papel de filtro umedecido com água destilada autoclavada e incubadas a $25 \pm 1^\circ C$ sem fotoperíodo durante sete dias.

No solo arenoso utilizado na mistura para o cultivo das mudas de alface, a presença de micro-organismos nativos foi realizada pelo teste de Unidades Formadoras de Colônias segundo a metodologia descrita por Clark (1965) com modificações. Para tanto, o solo (10 g) foi transferido para frasco Erlenmeyer contendo 90 mL de água destilada autoclavada e agitado manualmente. Em seguida, 1 mL da solução foi transferida para tubos de ensaio contendo 9 mL de água destilada autoclavada e agitado em Vortex (diluição 10^{-1}) por 20 seg. e repetido até a diluição 10^{-6} . Posteriormente, uma alíquota de 1 mL da solução, por diluição, foi transferida para placas de Petri contendo meio de cultura BDA (39 g L^{-1} do produto comercial). A incubação foi realizada a $25 \pm 1^\circ C$ sem fotoperíodo durante sete dias.

A colonização micorrízica e as estruturas micorrízicas (hifas, vesículas e arbúsculos), bem como a colonização por fungos endofíticos “dark septate” (DSE) nas plantas de alface foram avaliadas pelo método de intersecção segundo Gois *et al.* (2019). Para tanto, os fragmentos radiculares coloridos com azul de Tripán foram observados em lâminas quadriculadas (5 mm x 5 mm) ao microscópio óptico com aumento de até 400 x. A porcentagem (P) de colonização micorrízica, das estruturas micorrízicas (hifas, vesículas e arbúsculos) e de colonização por DSE (presença de hifas melanizadas) foi calculada pela equação: $P (\%) = (F/T) \times 100$, onde F = número de fragmentos colonizados e T = número total de fragmentos analisados (colonizados e não colonizados).

A altura da planta e o comprimento da raiz das plantas de alface foram determinados com uma régua milimétrica, cuja medição foi realizada a partir do colo. Para determinação da massa seca, a matéria fresca vegetal foi submetida a secagem em estufa com circulação forçada de ar a 60 °C até massa constante e a massa determinada em balança semi-analítica. O incremento (I) nas variáveis de altura da planta, comprimento da raiz, massa seca da parte aérea e da raiz foi calculado pela equação: $I = [(V_a \times 100)/V_c] - 100$, onde: V_a = valor da variável analisada no tratamento com o inoculante fúngico e V_c = valor da variável no tratamento controle (sem inoculação fúngica).

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Na análise de correlação dos dados das variáveis número de galhas, colonização por FMA nativos e DSE nativos, altura da planta, comprimento da raiz, massa seca da parte aérea e da raiz foi aplicado o teste *F* a 1 e 5% de probabilidade.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 ATIVIDADE NEMATICIDA E NEMATOSTÁTICA DE FILTRADOS FÚNGICOS

Dong *et al.* (2006) mencionaram que o meio de cultivo pode influenciar na composição e na quantidade de compostos fúngicos tóxicos, o que interfere na imobilidade e na mortalidade de fitonematoides. Nesse sentido, o meio de cultivo a base de extrato de malte (controle 2) não interferiu no número e na porcentagem de J2 vivos, estáticos e mortos em comparação ao controle 1 realizado em água destilada autoclavada (Tabela 2).

Tabela 2. Número médio e porcentagem média de indivíduos J2 de *Meloidogyne incognita* vivos, estáticos e mortos após 22h de incubação com filtrados fúngicos dos isolados do cogumelo Shiitake

Tratamentos	Número médio de J2				% média de J2		
	Vivo	Estático	Morto	Total	Vivo	Estático	Morto
Controle 1	10,9 ab	4,4 b	1,7 b	17,2 b	64,7 a	25,5 b	9,8 c
Controle 2	12,1 a	6,6 b	2,9 b	21,6 b	64,8 a	24,2 b	11,0 c
LED AJU1	17,1 a	17,1 a	3,9 b	38,1 a	37,3 b	47,1 a	15,6 c
LED AJU3	7,0 bc	3,7 b	5,0 b	15,7 b	31,2 b	28,9 b	39,9 a
LED CHI	4,3 c	9,1 b	10,3 a	23,7 b	11,8 c	47,0 a	41,2 a
LED REC1	11,8 ab	6,6 b	4,0 b	22,4 b	40,8 b	32,0 b	27,2 b
CV (%)	58,6	44,5	49,3	39,3	48,7	42,2	54,9
Média	10,2	8,3	5,2	23,7	37,5	35,9	26,6

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

No número médio de J2 vivos, o filtrado LED CHI foi o que apresentou menor valor em comparação aos controles 1 e 2. Da mesma forma, no filtrado LED AJU3 houve menor número de J2 vivos em relação ao controle 2 e LED AJU1. Não houve diferença significativa entre os tratamentos LED AJU3 e LED CHI no número de J2 vivos. Os filtrados LED AJU1 e LED CHI apresentaram número de J2 estáticos e mortos significativamente superior aos demais tratamentos, respectivamente (Tabela 2).

Em porcentagem de J2 vivos, todos os tratamentos com filtrados fúngicos reduziram significativamente essa variável em comparação aos controles 1 e 2. Dentre os filtrados, o LED CHI foi o que apresentou a menor porcentagem de J2 vivos (Tabela 2).

Nos filtrados LED AJU1 e LED CHI houve 47,1% e 47,0% de J2 estáticos, respectivamente, e foram estatisticamente superiores aos demais tratamentos, cujo valor médio foi de 35,9%. A mortalidade média dos juvenis de *M. incognita* foi de 26,6%, valor este foi próximo aos 28,6% de mortalidade do nematoide *B. xylophilus* após 24h de incubação obtidos com o filtrado do *L. edodes* citados por Dong *et al.* (2006). Nos tratamentos LED AJU3, LED CHI e LED REC1, a mortalidade de 39,9%, 41,2% e 27,2%, respectivamente, foi significativamente superior aos controles (1 e 2) e ao LED AJU1 (Tabela 2).

Comparativamente, Hahn (2017) observou que o filtrado do meio de cultivo de *L. edodes* reduziu a taxa de eclosão, bem como resultou em 31,0 a 50,0% de imobilidade e em 24,6 a 26,6% de mortalidade dos juvenis de *M. javanica* “in vitro”. E o extrato do substrato de cultivo a base de resíduos vegetais após 120 dias de colonização pelo *L. edodes* resultou em 76 a 86% na taxa de mortalidade e 0% de imobilização do *M. javanica* (HAHN, 2017), enquanto os filtrados de *Pleurotus* sp. resultaram na taxa de imobilização dos juvenis de 44,3 a 100% do *M. javanica* (HEYDARI; POURJAM; GOLTAPPEH, 2006).

A imobilidade e a mortalidade dos juvenis de *M. incognita* pode estar correlacionada à liberação de metabólitos secundários fúngicos, vez que Afonso (2019) citou a atividade antimicrobiana do filtrado de *L. edodes* devido a formação do ácido oxálico, lentionina e de polissacarídeos de alto peso molecular como o lentinano, enquanto nos filtrados do cogumelo *Pleurotus* spp. foram identificados o ácido S-coriolico, ácido linoleico, a ostreatina caracterizada como ácido trans-2-decenedioico foram compostos com ação nematicida (HAHN, 2017).

De forma geral, este método é uma forma simples e rápida de avaliar o potencial nematicida e/ou nematostático dos filtrados, vez que o filtrado reduz o tempo de obtenção do produto comercial, quando comparado ao uso de extratos ou do substrato da produção de fungos comestíveis citados por Santos *et al.* (2018). Deve-se considerar também que os filtrados fúngicos são substâncias biodegradáveis, o que reduz o risco de contaminação ao contrário dos nematicidas sintéticos (HAHN *et al.*, 2017), bem como o uso de pesticidas, uma vez que os filtrados do meio de cultivo dos isolados do cogumelo Shiitake poderão ser multifuncionais, pois extratos de cogumelos e filtrados de fungos reduzem o crescimento de bactérias e fungos fitopatogênicos (ASSI *et al.*, 2017; MENEGASSI *et al.*, 2017; KAUR *et al.*, 2016) e de insetos pragas (SABOTIĆ; OHM; KÜNZLER, 2016).

3.2 FUNGOS COMESTÍVEIS E MICROBIOTA NATIVA NO CONTROLE DO NEMATOIDE FORMADOR DE GALHAS

Na alface cv. ‘Saia Véia’, o LED REC1 reduziu significativamente o número de galhas do *M. incognita* em relação ao controle (sem inoculante fúngico). O número de galhas não apresentou diferença significativa entre os tratamentos com os inoculantes fúngicos, bem como em comparação entre controle, LED AJU1, LED AJU3 e LED CHI. Os inoculantes fúngicos reduziram de 39,3 a 61,2% o número de galhas e inibiram 100% a formação de massas de ovos em relação ao controle (Tabela 3).

Tabela 3. Número de galhas, número de massas de ovos e porcentagem de inibição do número de galhas (PI-NG) de *Meloidogyne incognita* em alface cv. 'Saia Vêia' cultivada com inoculantes do cogumelo Shiitake em relação ao controle

Tratamentos	Número de galhas por grama de raiz	PI-NG (%)	Número de massas de ovos por grama de raiz
Controle	122,8 a ¹		2,8
LED AJU1	51,2 ab	58,3	- ²
LED AJU3	73,4 ab	40,2	-
LED CHI	74,6 ab	39,3	-
LED REC1	47,6 b	61,2	-
CV (%)	27,8		

¹ Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade; ² (-) não houve formação de massas de ovos.

Em quiabeiro, o LED AJU1 reduziu significativamente o número de galhas (85,6%), o número de massas de ovos (62,1%) e o número de ovos (55,6%) do *M. incognita* (SANTOS *et al.*, 2018). Esses autores ainda observaram que o LED CHI reduziu em 51,5% o número de galhas em quiabeiro, cujos dados diferem dos obtidos em alface com o mesmo isolado fúngico, provavelmente devido à interação com a planta hospedeira e das condições de cultivo, como relatado por Lopes *et al.* (2018) com espécies de poáceas.

Por sua vez, Mamiya (2006) verificou que o micélio do cogumelo Shiitake apresentou ação atrativa e nematicida sobre o nematoide *B. xylophilus*. E os isolados dos cogumelos comestíveis *P. florida* e *A. bisporus* também reduziram o número de galhas e de massas de ovos, mas devido à liberação de compostos fenólicos (ASLAM; SAIFULLAH, 2013), enquanto o extrato do cogumelo *P. eryngii* reduziu em 53% o número de ovos do nematoide *M. javanica* através da ação de proteases e quitinases (SUFIAATE *et al.*, 2017).

Outro fator que deve ter contribuído para redução do número de galhas e de massas de ovos com o emprego dos inoculantes fúngicos do cogumelo Shiitake foi a presença dos fungos *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp., *Acremonium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Nigrospora* sp., *Curvularia* sp. e *Alternaria* sp. no solo de cultivo das mudas de alface. Dentre os fungos observados, o *Fusarium* sp. e o *Trichoderma* sp. excretam metabólitos secundários com ação nematicida (FERRAZ; BROWN, 2016), os quais podem ter interferido no controle do *M. incognita* nas plantas de alface cultivadas com os inoculantes fúngicos. Nas sementes de alface não foram identificados micro-organismos endofíticos e/ou fitopatogênicos.

No solo, os fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e os endofíticos "dark septate" (DSE) também podem influenciar no controle de fitonematoides (SANTOS *et al.*, 2018; ANJOS *et al.*, 2010) e no crescimento das plantas (GOIS *et al.*, 2019; MARTINS *et al.*, 2018).

Nas plantas de alface cv. 'Saia Vêia', a colonização micorrízica de 32,2 a 73,6% com LED AJU3, LED CHI e LED REC1 foi significativamente superior aos demais tratamentos. Não houve diferença significativa na colonização entre o controle e o LED AJU1 (Tabela 4).

Tabela 4. Colonização micorrízica (CM), estruturas micorrízicas (hifas - HIF, arbúsculos - ARB e vesículas - VES) e colonização por fungos endofíticos “dark septate” (DSE) em plantas de alface cv. ‘Saia Véia’ cultivadas com inoculantes fúngicos após 30 dias do transplântio

Tratamentos	CM (%)	HIF (%)	ARB (%)	VES (%)	DSE (%)
Controle	13,1 d	55,0 a	13,3 b	11,7 b	26,1 a
LED AJU1	20,1 d	7,0 b	6,2 b	10,8 b	17,1 a
LED AJU3	32,2 c	23,1 b	16,2 b	65,6 a	16,1 a
LED CHI	73,6 a	4,1 b	38,4 a	61,1 a	1,3 c
LED REC1	46,5 b	10,3 b	42,1 a	50,3 a	6,6 b
CV (%)	25,9	63,4	40,8	38,2	23,5

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

A colonização micorrízica da alface de 20,1% com LED AJU1 foi menor que 60,9% obtidos com o mesmo inoculante fúngico em quiabeiro por Santos *et al.* (2018). Nesse resultado, a época do ano e a planta hospedeira podem ter influenciado na interação fungo *versus* planta, tal como observado com sorgo e braquiária colonizados por FMA (LOPES *et al.*, 2018).

Nas plantas de alface, a colonização micorrízica das plantas de alface ‘Saia Véia’ não foi correlacionada com o número de galhas observado no controle ($r = -0,10$) e nos tratamentos LED AJU1 ($r = 0,37$), LED AJU3 ($r = 0,45$), LED CHI ($r = 0,13$) e LED REC1 ($r = 0,68$) a 1 e 5% probabilidade, ou seja, a colonização por FMA não influenciou no controle do *M. incognita*. Comparativamente, Anjos *et al.* (2010) observaram que o estabelecimento da simbiose entre o fungo micorrízico arbuscular *Scutellospora heterogama* e o maracujazeiro reduziu a reprodução do *M. incognita* em solo desinfestado.

Na colonização micorrízica, as hifas hialinas intra e extrarradiculares são responsáveis pelo aumento da área de absorção de água e de nutrientes pela planta hospedeira (HEIDJEN *et al.*, 2015). No controle, a porcentagem de hifas hialinas (55,0%) foi significativamente superior aos tratamentos com os inoculantes fúngicos (Tabela 4), mas a presença dessas hifas não garante que sejam de FMA, vez que no solo foram observados os fungos *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp., *Acremonium* sp. e *Rhizoctonia* sp., que também apresentam hifas hialinas. Ressalta-se que na avaliação da colonização micorrízica não foi possível identificar se as hifas observadas eram de FMA ou dos fungos observados no solo devido à ausência de estruturas típicas reprodutivas.

Os arbúsculos são estruturas típicas de fungos micorrízicos arbusculares e são essenciais para simbiose entre o fungo e a planta hospedeira (CARDOSO; ANDREOTE, 2016). Na alface cv. ‘Saia Véia’, a porcentagem de arbúsculos de 38,4% (LED CHI) a 42,1% (LED REC1) foi significativamente superior aos tratamentos controle (13,3%), LED AJU1 (6,2%) e LED AJU3 (16,2%) (Tabela 4). Outra estrutura importante na simbiose FMA *versus* planta são as vesículas, pois servem de órgão de reserva de energia para algumas espécies fúngicas (HEIDJEN *et al.*, 2015). Na alface cv. ‘Saia Véia’, a porcentagem de vesículas nos tratamentos LED AJU3 (65,6%), LED CHI (61,1%) e LED REC1 (50,3%) foi significativamente superior ao controle (11,7%) e ao LED AJU1 (10,8%) (Tabela 4).

No quiabeiro cultivado com LED AJU1 e LED CHI, a porcentagem de arbúsculos e de vesículas foi de 23,9 e 32,4%; e de 14,6% e 9,5%, respectivamente (SANTOS *et al.*, 2018), os quais diferem dos valores

obtidos com estes inoculantes em alface cv. 'Saia Véia', provavelmente devido à interação fungo *versus* planta hospedeira (LOPES *et al.*, 2018).

Nos tratamentos controle, LED AJU1 e LED AJU3, a colonização por DSE variou de 16,1 a 26,1% e foi significativamente superior ao LED CHI (1,3%) e LED REC1 (6,6%) (Tabela 4). Neste resultado deve-se considerar que os fungos DSE apresentam hifas melanizadas, que também são típicas dos fungos *Alternaria*, *Curvularia* e *Nigrospora* identificados no solo utilizado na mistura para cultivo das mudas de alface, mas conforme discutido anteriormente, não foi possível a identificação taxonômica dos fungos observados na avaliação da colonização por DSE pela ausência de estruturas reprodutivas.

A colonização por DSE das plantas de alface não foi correlacionada com o número de galhas observados nos tratamentos controle ($r = -0,03$), LED AJU1 ($r = 0,34$), LED AJU3 ($r = 0,47$), LED CHI ($r = 0,31$) e LED REC1 ($r = 0,80$) a 1% e 5% de probabilidade. O mesmo comportamento foi observado com os inoculantes LED AJU1 e LED CHI em quiabeiro infestado pelo *M. incognita* (SANTOS *et al.*, 2018). Entretanto, a colonização por DSE foi correlacionada positivamente com a colonização micorrízica nos tratamentos controle ($r = 0,96$), LED AJU1 ($r = 0,91$), LED AJU3 ($r = 0,98$), LED CHI ($r = 0,97$) e LED REC1 ($r = 0,97$) a 1% de probabilidade, ou seja, houve uma interação benéfica entre DSE e FMA nativos.

Na literatura não foram encontrados dados de crescimento de plantas de alface em substrato colonizado por fungos comestíveis, mas o cultivo de tomateiro de mesa e do maracujazeiro redondo amarelo em substrato colonizado por *P. ostreatus*, *P. ostreatoroseus* aumentou a biomassa vegetal devido ao incremento no teor de nitrogênio e de fósforo na matéria seca (MARINO *et al.*, 2019; FONTALVO *et al.*, 2013).

Na altura das plantas de alface, não houve diferença significativa nos tratamentos LED AJU1, LED AJU3 e LED CHI em relação ao controle. O LED REC1 reduziu significativamente a altura da planta em relação ao controle e ao LED AJU1. Não houve diferença significativa entre os tratamentos no comprimento da raiz. O cultivo das mudas de alface com LED REC1 reduziu significativamente a massa seca da parte aérea e da raiz em comparação ao controle (Tabela 5).

Tabela 5. Altura da planta (ALT), comprimento da raiz (CR), massa seca da parte aérea (MSPA) e massa seca da raiz (MSR) das plantas de alface cv. 'Saia Véia' cultivadas com inoculante do cogumelo Shiitake após 30 dias do transplântio

Tratamento	ALT (cm)	CR (cm)	MSPA (g)	MSR (g)
Controle	32,4 a ¹	13,3 a	9,2 a	1,5 a
LED AJU1	31,1 a	14,2 a	6,8 a	1,7 a
LED AJU3	28,4 ab	13,1 a	8,1 a	1,6 a
LED CHI	22,2 ab	13,6 a	9,1 a	1,7 a
LED REC1	19,0 b	10,8 a	3,1 b	0,7 b
CV (%)	20,6	22,5	35,6	22,2

Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Em relação ao controle, os inoculantes do cogumelo Shiitake reduziram de 3,7 a 31,5% a altura da planta e de 1,9 a 66,5% a massa seca da parte aérea. No comprimento da raiz, os inoculantes LED AJU1 e LED CHI promoveram incremento de 6,8 e 2,6%, respectivamente. Na massa seca da raiz apresentou incremento de 10,7 a 17,7% com o uso dos inoculantes LED AJU1, LED AJU3 e LED CHI, enquanto o LED REC1 reduziu

51,4% essa variável (Figura 1), cujo resultado pode estar correlacionado ao aumento na disponibilidade de nutrientes após a colonização fúngica, tal como mencionado por Fontalvo *et al.* (2013) durante o cultivo do tomateiro em substrato colonizado pelo *P. ostreatus*.

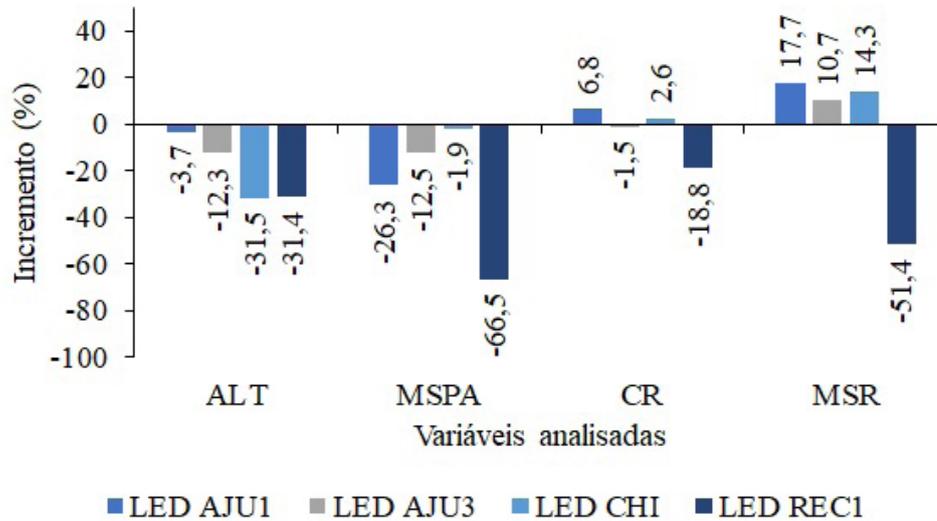


Figura 1. Incremento na altura da planta (ALT), no comprimento da raiz (CR), na massa seca da parte aérea (MSPA) e na massa seca da raiz (MSR) das plantas de alface cv. ‘Saia Vêia’ cultivadas com inoculantes do cogumelo Shiitake em relação ao controle.

Por sua vez, Martins *et al.* (2018) mencionaram que a colonização micorrízica de plantas de alface por *Rhizoglyphus* sp. promoveu o incremento na massa seca em relação ao controle. Nas plantas de alface cv. ‘Saia Vêia’, a altura da planta, o comprimento da raiz, a massa seca da parte aérea e da raiz foram correlacionadas positivamente com a colonização pelos fungos micorrízicos arbusculares (FMA) e pelos fungos DSE (Tabela 6), ou seja, os endofíticos FMA e os DSE nativos influenciaram no desenvolvimento das mudas da alface.

Tabela 6. Coeficiente de correlação entre as variáveis de colonização micorrízica (CM), de colonização por fungos endofíticos “dark septate” (DSE), de massa seca da parte aérea (MSPA), de massa seca da raiz e do número de galhas (NG) de *M. incognita* em plantas de alface cv. ‘Saia Vêia’ cultivadas com inoculantes do cogumelo Shiitake

Variáveis	Coeficiente de correlação (r) por tratamento				
	Controle	LED AJU1	LED AJU3	LED CHI	LED REC1
CM x ALT	0,94 **	0,89 **	0,97 **	0,96 **	0,96 **
CM x CR	0,96 **	0,93 **	0,98 **	0,97 **	0,97 **
CM x MSPA	0,94 **	0,93 **	0,98 **	0,98 **	0,97 **
CM x MSR	0,95 **	0,92 **	0,99 **	0,97 **	0,97 **
DSE x ALT	0,94 **	0,98 **	0,95 **	1,00 **	0,99 **
DSE x CR	0,96 **	0,99 **	0,99 **	0,99 **	0,98 **
DSE x MSPA	0,92 **	0,98 **	0,96 **	0,98 **	0,99 **
DSE x MSR	0,95 **	0,99 **	0,98 **	1,00 **	0,99 **
NG x ALT	-0,26 ns	0,36 ns	0,65 ns	0,36 ns	0,78 ns
NG x CR	-0,17 ns	0,46 ns	0,48 ns	0,35 ns	0,75 ns
NG x MSPA	-0,18 ns	0,51 ns	0,62 ns	0,28 ns	0,78 ns
NG x MSR	-0,16 ns	0,44 ns	0,52 ns	0,32 ns	0,78 ns

** significativo a 1% de probabilidade pelo teste t ($p < 0,01$) e ns - não significativo ($p > 0,05$).

Segundo Ferraz e Brown (2016) e Pinheiro *et al.* (2013), um dos sintomas da ocorrência de fitonematoides é a redução do crescimento da parte aérea e das raízes devido ao desvio de nutrientes para o metabolismo desse patógeno. Nas plantas de alface, a altura da planta, o comprimento da raiz, a massa seca da parte aérea e da raiz não foram correlacionadas com o número de galhas (Tabela 6), ou seja, a redução dessas variáveis não foi influenciada pelo *M. incognita*, provavelmente devido ao efeito compensatório pela colonização por FMA e/ou pelo baixo número de galhas observadas nas plantas e/ou pelo curto espaço de tempo de interação dos micro-organismos do solo e o nematoide.

Os fungos *Fusarium* sp., *Trichoderma* sp., *Acremonium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Nigrospora* sp., *Curvularia* sp. e *Alternaria* sp., identificados no solo utilizado na mistura com o inoculante fúngico durante o cultivo das plantas de alface, também podem ter influenciado no desenvolvimento da biomassa vegetal, pois, a depender da interação com a planta podem atuar como promotores de crescimento ou fitopatógenos (YAN *et al.*, 2015).

De forma geral, o inoculante LED REC1 do cogumelo Shiitake apresenta potencial nematicida contra o *M. incognita* na alface cv. 'Saia Véia', não deixa resíduos no ambiente e nos alimentos, sendo uma alternativa sustentável ao controle de pragas, principalmente, para a agricultura agroecológica.

5 CONCLUSÕES

Os filtrados LED AJU1 e LED CHI do cogumelo Shiitake apresentam atividade nematostática. E os filtrados LED AJU3 e LED CHI apresentam ação nematicida.

O substrato colonizado por LED REC1 apresenta atividade nematicida contra *Meloidogyne incognita*.

A colonização por fungos micorrízicos arbusculares e por fungos endofíticos "dark septate" nativos influenciam no crescimento das plantas de alface com o emprego dos inoculantes do cogumelo Shiitake, mas não interferem na redução do número de galhas.

REFERÊNCIAS

AFONSO, A. C. O. **Avaliação das propriedades antimicrobianas do Shiitake (*Lentinula edodes*) em isolados bacterianos responsáveis por Infecções Associadas aos Cuidados de Saúde (IACS)**. 2019. 89f. Dissertação (Mestrado em Farmácia e Química de produtos naturais) - Instituto Politécnico de Bragança e Faculdade de Farmácia da Universidade de Salamanca, Bragança, 2019.

ALFENAS, A. C.; MAFIA, R. G. **Métodos em fitopatologia**. Viçosa: Ed. UFV, 2007.

ANJOS, E. C. T.; CAVALCANTE, U. M. T.; GONÇALVES, D. M. C.; PEDROSA, E. M. R.; SANTOS, V. F.; MAIA, L. C. Interactions between and arbuscular mycorrhizal fungus *Scutellospora heterogama* a and the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on sweet passion fruit (*Passiflora alata*). **Brazilian Archives Biology Technology**, Curitiba, v. 53, n. 4, p. 801-809, 2010. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-89132010000400008>.

ASLAM, S.; SAIFULLAH. Organic management of root knot nematodes in tomato with spent mushroom compost. **Sarhad Journal of Agriculture**, Lancashire, v. 29, n. 1, p. 63-69, 2013.

- ASSI, L.; MEINERZ, C. C.; STANGARLIN, J. R.; KUHN, O. J.; VIECELLI, C. A.; SCHWAN-ESTRADA, K. R. F. Controle de *Alternaria solani* e de *Xanthomonas vesicatoria* em tomateiro por extrato formulado de *Pycnoporus sanguineus*. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 16, n. 3, p. 314-320, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v16n3p314-320>
- BARNETT, H. L.; HUNTER, B. B. **Illustrated genera of imperfect fungi**. 4. ed. Ohio: Amer Phytopathological Society, 1998.
- CARDOSO, E. J. B. N.; ANDREOTE, F. D. **Microbiologia do solo**. 2. ed. Piracicaba: ESALQ, 2016.
- CLARK, F. E. Aerobic spore-forming bacteria. In: BLACK, C. A. **Methods of soil analysis**. Madison: American Society of Agronomy, 1965. Vol. 2, p. 1473-1476.
- DONG, J. Y.; LI, X. P.; LI, L.; LI, G. H.; LIU, Y. J.; ZHANG, K. Q. Preliminary results on nematicidal activity from culture filtrates of Basidiomycetes against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Aphelenchoididae). **Annals of Microbiology**, Milão, v. 56, n. 2, p. 163-166, 2006.
- FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. Interação planta-nematoide: estratégias de alimentação. In: FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma, 2016. p. 66-90.
- FONTALVO, J. A. L.; LÓPEZ, L. S. C.; PERTUZ, K. I. G.; BORJA, I. M. R. Efecto de residuos agroforestales parcialmente biodegradados por *Pleurotus ostreatus* (Pleurotaceae) sobre el desarrollo de plântulas de tomate. **Acta Biológica Colombiana**, Bogotá, v. 18, n. 2, p. 365-374, 2013.
- GOIS, L. S.; SANTOS, J. S.; SANTOS, J. F. S.; BARBOSA, A. V. G.; VIÉGAS, P. R. A.; MARINO, R. H. Endophytic microorganisms and nitrogen levels on rice plant growth. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 43, artigo e001519, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1413-7054201943001519>
- HAHN, M. H. **Levantamento bibliométrico dos estudos com fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne* spp. e potencial de cogumelos no controle de *Meloidogyne javanica***. 2017. 96f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2017.
- HAHN, M. H.; DUARTE, H. S. S.; MIO, L. L. M.; KUHN, O. J. Levantamento bibliométrico de fungos nematófagos para o controle dos nematoides de galhas. **Scientia Agraria Paranaensis**, Marechal Cândido Rondon, v. 17, n. 4, p. 389-397, 2018.
- HEYDARI, R.; POURJAM, E.; GOLTAPPEH, E. M. Antagonistic effect of some species of *Pleurotus* on the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in vitro. **Plant Pathology Journal**, Sutton Bonington, v. 5, n. 2, p. 173-177, 2006.
- HEIJDEN, M. G. A.; MARTIN, F. M.; SELOSSE, M. A.; SANDERS, I. R. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. **New Phytologist**, New York, v. 205, n. 4, p. 1406-1423, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1111/nph.13288>
- JALONEN, R.; TIMONEN, S.; SIERRA, J.; NYGREN, P. Arbuscular mycorrhizal symbioses in a cut-and-carry forage production system of legume tree *Gliricidia sepium* and fodder grass *Dichanthium aristatum*. **Agroforestry Systems**, New York, v. 87, n. 2, p. 319-330, abr. 2013.

KAUR, H.; NYOCHEMBENG, L. M.; MENTREDDY, S. R.; BANERJEE, P.; CEBERT, E. Assessment of the antimicrobial activity of *Lentinula edodes* against *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*. **Crop Protection**, Lincoln, v. 89, n. 1, p. 284-288, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2016.08.001>

LOPES, L. J. O.; SANTOS, G. M.; SANTOS, J. S.; SANTOS, J. F. S.; MENDONÇA, J. J.; FAGUNDES, J. L.; MARINO, R. H. Produção de propágulos micorrízicos em sorgo e/ou em braquiária. **Revista Scientia Plena**, São Cristóvão, v. 14, n. 8, p. 1-8, 2018. DOI: <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2018.086201>

MAMIYA, Y. Attraction of the pinewood nematode to mycelium of some wood-decay fungi. **Japanese Journal of Nematology**, Kumamoto, v. 36, n. 1, p. 1-9, 2006. DOI: <https://doi.org/10.3725/jjn.36.1>

MARINO, R. H.; SILVA, N. E. C.; SANTOS, W. B.; SILVA, I. V. S.; AMÂNCIO, L. H. S. Universidade Federal de Sergipe. **Nematicida biológico**. BR 10 2018 073957 3, 22 nov. 2018.

MARINO, R. H.; MATOS, M. P.; SANTOS, I. V. S.; CORREIA, D. P. A.; JESUS, M. S.; LIMA, I. S.; ANDRADE, K. R.; PEREIRA, L. B. B. Crescimento de mudas de maracujazeiro em compósitos fúngicos à base de pó de coco. **Revista Craibeiras de Agroecologia**, Rio Largo, v. 4, suplemento, p.e.8971, 2019.

MARTINS, A. P. B.; PEREIRA, J. P.; CORRÊA, P. A.; MELO, M. C. C.; SOUZA, F. A. Inoculação de microrganismos eficientes (EM) e fungos micorrízicos arbusculares (FMA) em alface: um trabalho de campo conduzido na horta comunitária (HC) Vapabuçu, município de Sete Lagoas - MG. **Caderno de Agroecologia**, Recife, v. 13, n. 1, p. 1-8, 2018.

MENEGASSI, T.; RIBAS, B. A. M.; LEITE, C. D.; FARIA, C. M. D. R.; MAIA, A. J. Extrato de *Lentinula edodes* no controle da antracnose do feijoeiro. **Applied Research & Agrotechnology**, Guarapuava, v. 10, n. 3, p. 75-81, 2017. DOI: <https://doi.org/10.5935/PAeT.V10.N3.08>

PINHEIRO, J. B.; PEREIRA, R. B.; CARVALHO, A. D. F.; RODRIGUES, C. S.; SUINAGA, F. A. Manejo de nematoides na cultura de alface. **Circular técnica**, n. 124, Brasília: Embrapa Hortaliças, p. 1-8, 2013.

SABOTI, J.; OHM, R. A.; KÜNZLER, M. Entomotoxic and nematotoxic lectins and protease inhibitors from fungal fruiting bodies. **Applied Microbiology Biotechnology**, Berlim, v. 100, n. 1, p. 91-111, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7075-2>

SANTOS, J. F. S.; TEIXEIRA, J. L.; SANTOS, J. S.; MENDONÇA, J. J.; SANTOS, T. A. C.; GOIS, L. S.; LOPES, L. J. O.; SOUZA, A. L.; MARINO, R. H. Interação microbiana e fertilizante Protector® NM no controle de *Meloidogyne incognita*. **Revista Scientia Plena**, São Cristóvão, v. 14, n. 11, p. 1-9, 2018. DOI: <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2018.113101>

SILVA, G. H.; OLIVEIRA, D. F.; CAMPOS, V. P. Purificação de metabólitos fúngicos com efeitos tóxicos sobre *Meloidogyne incognita*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 27, n. 6, 2002. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-41582002000600006>

SUFIATE, B. L.; SOARES, F. E. F.; MOREIRA, S. S.; GOUVEIA, A. S.; MONTEIRO, T. S. A.; FREITAS, L. G.; QUEIROZ, J. H. Nematicidal action of *Pleurotus eryngii* metabolites. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, Ontário, v. 12, n. 1, p. 216-219, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.10.009>

YAN, J. F.; BROUGHTON, S. J.; YANG, S. L.; GANGE, A. C. Do endophytic fungi grow through their hosts systemically? **Fungal Ecology**, Manchester, v. 13, n. 1, p. 53-59, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.07.005>