



Interação microbiana e fertilizante Protector® NM no controle de *Meloidogyne incognita*

Microbial interaction and fertilizer Protector® NM in the control of *Meloidogyne incognita*

J. F. S. Santos; J. L. Teixeira; J. S. Santos; J. J. Mendonça; T. A. C. Santos; L. S. Gois; L. J. O. Lopes; A. L. Souza; R. H. Marino*

Departamento de Engenharia Agronômica, Universidade Federal de Sergipe, 49100-000, São Cristóvão-Sergipe, Brasil

*rehmarino@hotmail.com

(Recebido em 21 de maio de 2018; aceito em 07 de novembro de 2018)

Na agricultura orgânica um dos principais problemas fitossanitários é a ocorrência de nematoides *Meloidogyne* spp., os quais podem reduzir em até 100% da produtividade a depender da interação com a planta hospedeira. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da interação de micro-organismos do solo, do substrato de cultivo do cogumelo comestível *Lentinula edodes* e do biofertilizante Protector® NM no controle de *Meloidogyne incognita* em quiabeiro cultivado em uma propriedade orgânica. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso composto por cinco tratamentos (controle - sem inoculação fúngica, sem fertilizante; Protector® NM - sem inoculação fúngica + fertilizante; dois isolados fúngicos de *L. edodes* (LED): LED-AJU1, LED-CHI e pela mistura de LED-CHI + *Penicillium* spp.) distribuídos em três blocos com 11 plantas por tratamento e por bloco. O controle do *M. incognita* pelo fungo *L. edodes* é influenciado pela colonização micorrízica, a depender da interação microbiana. A colonização do quiabeiro por fungos DSE não interfere no controle de *M. incognita* pelos isolados de *L. edodes* e o emprego do biofertilizante Protector® NM, mas influência na colonização por FMAs nativos a depender da interação. O biofertilizante Protector® NM e o isolado LED-CHI+*Penicillium* apresentam potencial no controle de *M. incognita*. A interação entre FMAs nativos e o isolado LED-CHI apresenta potencial no controle do nematoide *M. incognita*, o que representa uma alternativa para agricultura orgânica.

Palavras-chave: Fungos endofíticos, fungos micorrízicos arbusculares, cogumelo

In organic agriculture one of the main phytosanitary problems is the occurrence of nematode *Meloidogyne* spp., which can reduce by up to 100% of the productivity depend on the interaction with the host plant. The objective of this work was to evaluate the effect of the interaction with soil microorganisms, the cultivation substrate of the edible fungus *Lentinula edodes* and the biofertilizer Protector® NM in the control of *Meloidogyne incognita* in okra cultivated in an organic property. The experimental design was a randomized complete set consisting of five treatments (Control – without inoculum with fungus, and without fertilizer Protector® NM; and two isolates of *L. edodes* (LED): LED-AJU1, LED-CHI and by the mixture of LED-CHI + *Penicillium* spp.) distributed in three blocks with 11 plants per treatment and per block. The control of *M. incognita* by *L. edodes* is influenced by mycorrhizal colonization, depending on the microbial interaction. The colonization of the okra by DSE does not interfere in the control of *M. incognita* by the isolates of *L. edodes* and the use of the biofertilizer Protector® NM, but influence in the colonization by native AMFs depending on the interaction. The biofertilizer Protector® NM and the LED-CHI + *Penicillium* isolate have potential the *M. incognita* control. The interaction between native AMFs and the LED-CHI isolate has potential in nematode *M. incognita* control, what represents an alternative to organic agriculture.

Keywords: Endophytic fungi, arbuscular mycorrhizal fungi, mushroom

1. INTRODUÇÃO

O nematoide formador de galhas *Meloidogyne* spp. é considerado cosmopolita com habilidade de adaptação e ao parasitismo em mais de 3000 espécies de plantas, o qual gera perdas significativas na agricultura [1]. No quiabeiro, *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* são as principais espécies encontradas no Brasil [2].

Dentre os métodos de controle de fitonematoides pode-se citar a solarização [3] e o controle químico pelo uso de nematicidas sintéticos [4]. No entanto, estes métodos não são seletivos e

eliminam parte da microbiota do solo que poderia também realizar o controle biológico do nematoide. Além disso, os nematicidas sintéticos são classificados como extremamente tóxicos, o que torna importante a busca de produtos alternativos com baixa toxicidade ao homem e que não poluam o ambiente. Neste contexto, os extratos de plantas antagônicas e/ou medicinais vem sendo empregados no controle de fitonematoides [5,6]. Comercialmente, o Protector® NM é um biofertilizante à base de extratos vegetais, que além de disponibilizar nutrientes importantes ao desenvolvimento da planta, reduz a movimentação de fitonematoides no solo (ação nematostática) e influencia negativamente na reprodução deste patógeno [7,8], como também citado para o fertilizante comercial Nemastop® [9].

Além disso, os biofertilizantes ao aumentarem a disponibilidade de nutrientes no solo podem estimular a microbiota nativa como os fungos *Fusarium moliforme*, *Cylindrocarpon magnusianum*, *Pochonia chlamydosporia*, *Paecilomyces lilacinus*, *Trichoderma koningii*, *Penicillium chrysogenum* e as bactérias *Bacillus subtilis* e *Bacillus megaterium* que apresentam efeito nematicida e nematostática [10, 11, 12, 13, 14, 15].

Os substratos de cultivo de fungos comestíveis como de *Pleurotus ostreatus* (shimeji, hiratake ou cogumelo ostra) e de *Agaricus bisporus* (champignon ou cogumelo de Paris) também podem ser utilizados como composto orgânico [16, 17], como promotor de crescimento vegetal [18] e como redutor da eclosão de ovos de *M. incognita* [19]. Mamiya (2006) [20] observou que o micélio dos fungos comestíveis *Pleurotus ostreatus*, *Pleurotus pulmonarius*, *Pleurotus eryngii*, *Lentinula edodes* e *Lampteromyces japonicus* atraíu e teve ação nematicida sobre *Bursapelenchus xylophilus* “in vitro”. A ação nematicida do extrato líquido do substrato de cultivo de *L. edodes* e *P. eryngii* também foi observada sobre o nematoide *Meloidogyne javanica* [21], mas não foram encontrados relatos sobre o efeito do substrato cultivo de *L. edodes* sobre o *M. incognita*.

Em condições de campo podem ocorrer outros micro-organismos como os fungos endofíticos “dark septate” (DSE) e os fungos micorrízicos arbusculares nativos (FMAs), que podem influenciar no controle de fitonematoides. Os DSE são fungos caracterizados por apresentarem hifas septadas melanizadas, capazes de promover o crescimento de raízes e da parte aérea de planta [22], além de estimular ou inibir outros micro-organismos presentes no solo e/ou na planta a depender da interação microbiana [23].

Os FMAs são considerados micro-organismos biotróficos simbiotes, que também podem promover o crescimento de plantas [24] e especificamente podem reduzir os sintomas e a incidência de nematoides formadores de galhas [25, 26]. Entretanto, o desenvolvimento “in vitro” de FMAs pode ser influenciado pela presença dos fungos DSE [27], o que também pode interferir no controle biológico de fitonematoides e na interação simbiótica com a planta hospedeira.

Em solos tropicais, a ocorrência de FMAs e de DSE é comum, mas não foram encontrados relatos na literatura que associassem a presença destes micro-organismos ao efeito de biofertilizante de origem vegetal ou microbiana no controle de fitonematoides. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da interação da microbiota do solo, do substrato de cultivo do cogumelo comestível *Lentinula edodes* e do biofertilizante Protector® NM no controle do nematoide formador de galhas *Meloidogyne incognita* em quiabeiro cultivado em uma propriedade orgânica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso composto pelo cultivo do quiabeiro (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) em cinco tratamentos (controle - sem inoculação fúngica, sem fertilizante; fertilizante Protector® NM – sem inoculação fúngica; dois isolados fúngicos de *Lentinula edodes* (LED): LED-AJU1, LED-CHI e pela mistura de LED-CHI com *Penicillium* spp.) distribuídos em três blocos com 11 plantas por tratamento e por bloco, totalizando 33 plantas nos três blocos. Os isolados de *L. edodes* foram obtidos a partir do fragmento do basidioma de *L. edodes* comercializado como shiitake em Aracaju-Sergipe (LED-AJU1) e em São Paulo-SP (LED-CHI). A mistura de LED-CHI com *Penicillium* ocorreu por este ser um fungo de solo capaz de influenciar no controle do fitonematoides.

O bioensaio foi conduzido em uma propriedade de produção orgânica de hortaliças (10°47'20" S; 37°22'43"O) certificada pelo Instituto Biodinâmico (IBD), localizada no município de Areia

Branca, povoado do Junco, no Estado de Sergipe. Na área experimental, o solo pertence à classe textural franco arenoso caracterizado por apresentar pH em água 6,9, teor de matéria orgânica de $4,7 \text{ g dm}^{-3}$, CTC de $1,3 \text{ cmol}_c \text{ dm}^{-3}$ e V de 76,5%, cujas análises químicas e físicas foram realizadas no Instituto Tecnológico e Pesquisas do Estado de Sergipe.

2.1. Produção do inoculante fúngico

Os isolados fúngicos testados foram LED-AJU1, LED-CHI de *Lentinula edodes* e o LED-CHI-P (mistura de LED-CHI e *Penicillium*). O inoculante fúngico foi produzido em substrato à base de pó de coco suplementado com 40% de farelo de trigo e umedecido a 60-70% com água destilada. A mistura foi acondicionada em frascos de 500 mL e, em seguida, autoclavada a 120°C e 1 atm, por uma hora e repetido após 24h da primeira autoclavagem. Após o resfriamento, foi realizada a transferência de um disco micelial de 6 mm de diâmetro, por frasco, em câmara asséptica. O cultivo dos isolados fúngicos foi realizado em incubadora BOD a $28 \pm 2^\circ\text{C}$, sem fotoperíodo até completa colonização.

2.2. Interação microbiana e biofertilizante no controle de *Meloidogyne incognita* em quiabeiro

Em campo, os tratamentos (controle, isolados fúngicos e Protector® NM) foram distribuídos em oito canteiros de $21,0 \times 1,5 \text{ m}$ (comprimento x largura). Nos tratamentos controle e Protector® foi realizada a semeadura das sementes de quiabeiro, sem adição de isolado fúngico. Nos tratamentos com os isolados LEDs foram adicionados 2,0 g de inoculante fúngico destorroado e semeadas duas sementes de quiabeiro por cova, com espaçamento entre plantas de $21 \times 70 \text{ cm}$.

O fertilizante Protector® NM foi aplicado diretamente no solo durante a semeadura e repetido por duas vezes, com intervalo de 30 dias. A dosagem comercial do produto foi utilizada, sendo 500 mL na 1ª aplicação enquanto na 2ª e 3ª aplicações foram utilizados 250 mL do fertilizante diluído em 20 litros.

A população de nematoides na área experimental foi identificada no Centro Experimental do Instituto Biológico, Campinas – SP. Para tanto, os nematoides foram extraídos de 250 cm^3 de solo arenoso pelo método de Jenkins (1964) [28] e de 10 g de raízes pelo método de Coolen e D'Herde (1972) [29]. A espécie de *Meloidogyne* foi identificada com base na morfologia da região perineal das fêmeas. No solo foram identificados fêmeas e machos de *Meloidogyne incognita* (30 indivíduos), juvenis de *Pratylenchus* sp. (10 indivíduos), *Hoplolaimous* sp. (270 indivíduos) e nematoides de vida livre (1260 indivíduos). Neste trabalho optou-se por avaliar apenas a ação dos tratamentos no controle de *Meloidogyne incognita*.

As variáveis analisadas após o cultivo do quiabeiro foram: colonização micorrízica por FMAs nativos, colonização por DSE, número de ovos, número de massas de ovos, número de galhas de *Meloidogyne incognita* e massa seca da raiz do quiabeiro, após 110 dias de cultivo. Na colheita selecionou-se três plantas ao acaso por tratamento em cada bloco para avaliação das variáveis.

A colonização do quiabeiro por FMAs nativos foi avaliada pelo método de intersecção segundo Giovannetti e Mosse (1980) [30] com modificações. Para tanto, coletou-se fragmentos radiculares com diâmetro inferior a 2 mm e, após a lavagem em água corrente, foi realizada a clarificação em hidróxido de potássio a 10% em banho-maria a 60°C , por 20 minutos. Em seguida, os fragmentos radiculares foram lavados em água corrente e adicionado o corante azul de Tripán, por quatro horas, à temperatura ambiente. As raízes foram lavadas em água corrente e armazenadas em solução de ácido láctico: glicerina (1:1). Para avaliação da colonização micorrízica, os fragmentos radiculares foram distribuídos ao acaso em uma lâmina quadriculada ($5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$) e avaliados ao microscópio ótico, com aumento de até 400x. A porcentagem de colonização micorrízica (CM) foi calculada pela equação: $\text{CM} (\%) = (\text{NTFC}/\text{NTF}) \times 100$, onde NTFC – número total de fragmentos radiculares colonizados e NTF – número total de fragmentos radiculares colonizados e não colonizados avaliados. Na fase de avaliação foram avaliadas as percentagens de arbúsculos, vesículas e hifas, sendo utilizada a mesma fórmula da colonização micorrízica.

A colonização do quiabeiro por DSE foi realizada segundo a metodologia descrita por Ribeiro et al. (2011) [31], com base na presença de hifas melanizadas e septadas. A porcentagem de

colonização por DSE foi determinada pela equação: $DSE (\%) = (NTFC/NTF) \times 100$, onde NTFC – número total de fragmentos colonizados por DSE e NTF – número de fragmentos radiculares colonizados e não colonizados.

O número de galhas foi determinado pela contagem direta por planta, após a lavagem das raízes em água corrente. O número de massas de ovos de *M. incognita* por planta foi determinado pela contagem direta, com auxílio de microscópio estereoscópio após a coloração das raízes com Floxina B, por 20 minutos. O número de ovos de *M. incognita* presentes nas massas de ovos, por planta, foi determinado pela contagem direta com auxílio de microscópio ótico. Para tanto, as massas de ovos foram transferidas individualmente para lâminas contendo uma gota de água destilada e coberta com lamínula.

A massa seca da raiz foi determinada após a colheita e a retirada das massas de ovos e dos ovos. Para tanto, as raízes foram secas em estufa com circulação forçada de ar a 60°C, até peso constante. A massa seca da raiz foi determinada em balança semi-analítica.

Os resultados obtidos foram submetidos ao Teste de Normalidade e transformados por $\sqrt{x + 1}$ e submetido à Análise de Variância (ANOVA). Nos casos em que houve diferença significativa foi aplicado o Teste de Tukey a 5% de significância para comparação das médias. Na análise de correlação foi aplicado o Teste t entre as variáveis analisadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Colonização por FMA e por DSE do quiabeiro

As plantas do quiabeiro cultivadas em campo com os isolados fúngicos LED-AJU1, LED-CHI+P e com o biofertilizante Protector® NM apresentaram taxa de colonização micorrízica de 70,4 a 74,1% e significativamente superior aos valores obtidos nos tratamentos controle (61,4%) e LED-CHI (60,9%) (Tabela 1).

Tabela 1. Colonização micorrízica (CM), arbúsculos (ARB), vesículas (VES), relação arbúsculo/vesículas (ARB/VES), hifas (HIF) e colonização por DSE no quiabeiro cultivado com isolados de *Lentinula edodes* e biofertilizante Protector® NM após 110 dias do plantio

Tratamentos	Variáveis analisadas					
	CM (%)	ARB (%)	VES (%)	ARB/VES	HIF (%)	DSE (%)
Controle	61,4 b*	15,4 a	9,2 a	1,6 a	71,6 a	49,6 a
LED-AJU1	74,1 a	23,9 a	14,6 a	2,3 a	47,6 a	52,0 a
LED-CHI	60,9 b	32,4 a	9,5 a	4,9 a	42,9 a	53,5 a
LED-CHI+P	73,1 a	31,9 a	10,0 a	3,6 a	50,8 a	53,3 a
Protector® NM	70,4 a	36,7 a	11,2 a	4,4 a	52,1 a	40,9 a
CV (%)	9,1	33,5	30,7	27,4	22,6	17,1

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estaticamente pelo Teste de Tukey

Magalhães (2015) [2] também observou elevada taxa de colonização por FMA do quiabeiro cultivado com *Rhizophagus clarus* e *Acaulospora scrobiculata*, além de uma mistura à base desses dois inóculos fúngicos, em casa de vegetação. Este autor cita ainda que o emprego do biofertilizante, à base de diferentes tipos de esterco, casca de cacau, açúcar, leite, calcário e adubos influenciou positivamente na colonização micorrízica do quiabeiro por FMA nativo. Este comportamento também foi observado com o uso do biofertilizante Protector® NM, um produto à base de extratos vegetais, bem como nos tratamentos LED-AJU1 e LED-CHI+P em relação ao controle (Tabela 1).

O aumento da colonização micorrízica do quiabeiro nos tratamentos com LED-AJU1 e LED-CHI+P pode estar associado a maior disponibilidade de nutrientes na planta, o que pode compensar o desvio de nutrientes para os nematoides nas galhas. Teixeira et al. (2016) [16] observaram que

no substrato colonizado pelo fungo comestível *P. ostreatus* em folha de bananeira apresentou incremento de 42,1 a 61,8% do teor de nitrogênio total e de 29,1 a 62,2% no teor de fósforo em relação ao controle, a depender do isolado fúngico.

Na interação FMA-planta, a relação entre as estruturas micorrízicas como arbúsculos e vesículas, podem indicar o tipo de interação do FMA na planta [32]. Segundo estes autores, a relação arbúsculo/vesícula menor que 1,0 indica uma competição por nutrientes entre os micro-organismos simbioses e a planta. Nos tratamentos controle, com os inoculantes LEDs e com o biofertilizante Protector® NM, a relação arbúsculos/vesícula variou de 1,6 a 4,9 devido maior percentagem de arbúsculos por vesícula, sem diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1). Este resultado indica uma interação benéfica FMA-planta, pois os arbúsculos são estruturas importantes na disponibilização de nutrientes entre fungo-planta [24]. Além disso, deve-se considerar que não houve correlação entre os isolados LEDs e do biofertilizante Protector® NM na formação das estruturas micorrízicas (arbúsculos, vesículas e hifas extrarradiculares).

As plantas do quiabeiro também foram colonizadas por fungos endofíticos DSE sem diferença significativa entre os tratamentos (Tabela 1). A percentagem de colonização por DSE apresentou correlação positiva com a taxa de colonização micorrízica nos tratamentos LED-CHI+P ($r = 0,9811$; $p < 0,01$) e o biofertilizante Protector® NM ($r = 0,9999$; $0,01 \leq p < 0,05$), o que caracteriza que os DSE estimularam a colonização micorrízica por FMAs nativos nestes tratamentos. Este resultado difere do que foi mencionado por Scervino et al. (2009) [27], em que observaram a influência negativa da colonização por DSE sobre o desenvolvimento de FMA “in vitro”, mas a ação dos fungos endofíticos como os fungos DSE varia a depender da interação microbiana [23, 35]. É importante considerar que não foram encontradas referências relacionadas sobre a ação dos DSE no controle de fitonematoides. Entretanto, a colonização por FMAs nativos e DSE do quiabeiro poderá influenciar no controle do nematoide *M. incognita*, pois estes micro-organismos são promotores de crescimento vegetal, por aumentar a disponibilidade de nutrientes na planta [33] e podem reduzir a incidência de fitonematoides [25, 26, 34] por induzir a resistência da planta, bem como influenciar na interação microbiana com a planta hospedeira [23, 35].

3.2. Interação microbiana e biofertilizante no controle de *Meloidogyne incognita* em quiabeiro

Em campo, o emprego do substrato de cultivo do isolado fúngico de *L. edodes* 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%) de *M. incognita* em relação ao tratamento controle (Tabela 2).

Tabela 2. Número de galhas (N.G.), número de massas de ovos (N.M.O.), número de ovos (N.O.) de *Meloidogyne incognita* e massa seca da raiz (MSR) do quiabeiro cultivado com isolados *Lentinula edodes* e o biofertilizante Protector® NM após 110 dias do plantio

Tratamentos	N.G.	N.M.O.	N. O.	MSR
Controle	1941,0 ^a	110,0 ^a	13594,0 ^a	187,0 ^a
LED-AJU1	279,3 ^c	41,7 ^b	6033,0 ^b	149,2 ^a
LED-CHI	942,0 ^b	124,7 ^a	17717,7 ^a	112,0 ^a
LED-CHI+P	1088,5 ^b	65,5 ^b	7099,0 ^b	148,2 ^a
Protector® NM	686,7 ^b	131,3 ^a	19588,7 ^a	135,8 ^a
CV (%)	38,1	33,9	36,1	35,8

*Médias seguidas de mesma letra, na coluna, não diferem estaticamente pelo Teste de Tukey

Hahn (2017) [21] também observou efeito nematicida do extrato líquido do substrato de cultivo de *Pleurotus eryngii* e *L. edodes* sobre o nematoide *M. javanica* “in vitro”. Mamiya (2006) [20] cita que o micélio dos fungos comestíveis de *P. ostreatus*, *P. pulmonarius*, *P. eryngii*, *L. edodes* sintetizou substâncias atrativas e letais ao nematoide *Bursapelenchus xylophilus* “in vitro”. Por sua vez, Ashlam e Saifullah (2013) [19] mencionam que *P. ostreatus* e *Agaricus bisporus* reduziram a população de *M. incognita* devido a liberação de compostos fenólicos, sendo o fenol o principal composto estrutural. Sufiate et al. (2017) [36] associam a redução de 53% no número de ovos de

M. javanica à liberação de enzimas excretadas por *P. eryngii* como as proteases e as quitinases com potencial ovicida.

No efeito do inoculante fúngico LED-AJU1 sobre a redução da população do *M. incognita* deve-se considerar que houve correlação negativa da colonização por FMAs nativos das plantas do quiabeiro com o número de massas de ovos ($r = -0,9571$; $p < 0,01$) e com o número de ovos ($r = -0,9825$; $p < 0,01$), mas sem influência dos fungos endofíticos DSE. Sousa et al. (2010) [25] também observaram que a colonização do tomateiro por FMAs reduziu significativamente o índice de galhas (46,4%) e do número de massa de ovos (78,8%) do nematoide *M. incognita*.

Segundo Folli-Pereira et al. (2012) [34], a redução dos fitonematoides em plantas micorrizadas pode estar associada a indução da resistência sistêmica contra o patógeno pela liberação de fitoalexinas pelos FMAs. Haddad (2008) [37] enfatiza que os FMAs podem disponibilizar nutrientes às plantas hospedeiras e com isso teria um efeito compensatório a ação dos fitonematoides, podendo inclusive influenciar na biomassa vegetal. Graham et al. (1982) [38] e Santos et al. (2018) [40] ressaltam que o incremento na biomassa da planta colonizada por FMAs depende da interação fungo-planta. Neste trabalho, a elevada taxa de colonização micorrízica do quiabeiro por FMAs nativos, em todos os tratamentos, não influenciou na massa seca da raiz do quiabeiro (Tabela 2), também observado por Anjos et al. (2010) [26] com maracujazeiro doce colonizado por FMA e infectado por *M. incognita*.

O emprego do inoculante LED-CHI reduziu significativamente 51,5% o número de galhas em relação ao controle. Neste tratamento, o número de massas de ovos e o número de ovos não apresentaram redução significativa em comparação ao controle. Por outro lado, o inoculante LED-CHI+P reduziu o número de galhas (43,9%), o número de massas de ovos (40,5%) e o número de ovos (47,8%) em relação ao controle (Tabela 2). Nos tratamentos LED-CHI e LED-CHI+P não houve correlação entre a colonização por FMAs nativos e por DSE, no número de galhas, de massas de ovos e de ovos, o que demonstra a ação dos isolados LED-CHI e LED-CHI+P no controle do *M. incognita* no quiabeiro, apesar da elevada taxa de colonização micorrízica e por DSE.

O emprego do biofertilizante Protector® NM reduziu 64,6% o número de galhas, mas não apresentou diferença significativa no número de massas de ovos e do número de ovos em relação ao controle (Tabela 2). Não houve correlação entre o número de galhas, número de massas de ovos e o número de ovos com a colonização por FMAs nativos e DSE. A redução do número de galhas pelo Protector® NM, também foi citada em bananeira devido ação degradadora dos ovos e/ou nematostática dos extratos vegetais sobre juvenis e adultos de nematoides [7, 8], cujo comportamento também foi observado no fertilizante Nemastop [9].

Segundo Dias et al. (2000) [39], os extratos vegetais promovem a redução do número de galhas causadas por fitonematoides por impedir o deslocamento dos nematoides do solo em direção às raízes, seguido pela morte dos estádios juvenis. Da mesma forma, Martins e Santos (2016) [6] observaram ação nematicida de macerados de plantas medicinais como agrião do brejo (*Eclipta alba* L.), alfavaca (*Ocimum basilicum*), Artemísia (*Artemisia vulgaris*) e confrei (*Symphytum officinale*), bem como pela redução de 100% do número de galhas em plantas de tomateiro infestadas por *M. incognita*.

Os fertilizantes Protector® NM e Nemastop com ação nematostática e/ou nematicida também pode estimular o crescimento de raízes devido maior disponibilidade de nutrientes às plantas [7, 8, 9]. Entretanto, o emprego do fertilizante Protector® NM em quiabeiro não influenciou na massa seca da raiz quando comparado aos valores obtidos com as plantas nos tratamentos controle e com o inoculante fúngicos de *L. edodes* (LED-AJU, LED-CHI, LED-CHI +P) (Tabela 2), tal como também observado por Corbani e Mazzone (2013)[5] com o emprego de extrato aquoso de amora (*Morus nigra*), erva de Santa Maria (*Cheopodium ambrosioides*) e capim-limão (*Cymbopogon citratus*), apesar da redução significativa do número de galhas.

No tratamento com Protector® NM houve correlação negativa entre a massa seca da raiz do quiabeiro com o número de massas de ovos ($r = -0,9999$; $0,01 \leq p < 0,05$), provavelmente devido a maior necessidade de nutrientes para formação das massas de ovos e dos ovos. Além disso, é importante considerar que as raízes do quiabeiro neste tratamento apresentaram colonização por FMAs nativos e DSE, cuja interação fungo-planta ocorre com gasto de energia e, portanto, pode ter influenciado no desenvolvimento das raízes em conjunto com os nematoides formadores de galhas.

Assim sendo, o emprego do isolado de *L. edodes* LED-AJU1 apresentou potencial para controlar o nematoide *M. incognita* associado à colonização por FMAs nativos, mas sem influência da colonização por DSE. Por outro lado, a colonização do quiabeiro por FMAs nativos e DSE não influenciou no controle do *M. incognita* nos tratamentos com LED-CHI, LED-CHI+P e Protector® NM. É importante considerar que, os isolados LEDs além de controlar o *M. incognita* também podem reduzir a incidência de determinadas doenças em plantas, pois o fungo *L. edodes* pode produzir substâncias antimicrobianas como observado no controle do mofo cinzento em videira [41], da inibição do crescimento “in vitro” do fungo *Colletotrichum sublineolum* agente causal da antracnose em sorgo e de *Xanthomonas axonopodis* pv. *Passiflorae* causadora da mancha bacteriana no maracujá [42] e/ou induzir a resistência da planta ao agente causal do oídio da soja (*Erysiphe difusa*) pela ativação de fitoalexinas [43]. Assim, o emprego do substrato de cultivo do cogumelo comestível shiitake (*L. edodes*) pode ser uma alternativa no controle de doenças na agricultura orgânica, bem como gerar renda aos fungicultores com a comercialização do substrato de produção deste cogumelo, atualmente descartado, sem retorno econômico.

4. CONCLUSÃO

O controle do *M. incognita* pelo fungo *L. edodes* é influenciado pela colonização micorrízica, a depender da interação microbiana.

A colonização do quiabeiro por fungos DSE não interfere no controle de *M. incognita* pelos isolados de *L. edodes* e o emprego do biofertilizante Protector® NM, mas influência na colonização por FMAs nativos a depender da interação.

O biofertilizante Protector® NM e o isolado LED-CHI+*Penicillium* apresentam potencial no controle do nematoide *M. incognita*.

A interação entre FMAs nativos e o isolado LED-CHI apresenta potencial no controle do nematoide *M. incognita*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Oliveira CMG, Santos MA, Castro LHS. Diagnose de fitonematoides. Campinas: Millennium Editora; 2016. 367p.
- Magalhães GMS. Efeito de biofertilizante sobre a produção de quiabeiro micorrizado e atributos físicos e químicos do solo. [Dissertação]. Ilhéus: Universidade Estadual de Santa Cruz; 2015. 94p.
- Reis JBRS, Jesus AM, Oliveira Júnior JL. Solarização associada a lâminas de irrigação na microbiota do solo e desenvolvimento inicial do abacaxizeiro. Caderno de Ciências Agrárias. 2017 Jan-Apr;9(1):19-30.
- Steffen RB, Aantoniolli ZI, Steffen GPK, Jacques RJS, Echhardt DP. Efeito da Abacmetina e carbofuran no controle de danos por *Meloidogyne graminicola*. Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia. 2011 Jul-Dec;18(2):56-9.
- Corbani RZ, Mazzonetto F. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies vegetais no manejo de *Meloidogyne incognita* em tomateiro em ambiente protegido. Revista Agrogeoambiental. 2013 Aug;5(2):61-66.
- Martins MCB, Santos CDG. Ação de extratos de plantas medicinais sobre juvenis de *Meloidogyne incognita* raça 2. Revista Ciência Agrônômica. 2016 Jan-Mar;47(1):135-142.
- Mundo da banana: Controlando nematoides no bananal. Disponível em: <<http://mundodabanana.com.br/controlando-nematoides-no-bananal-821/>>. Acesso em: 08 mai. 2018.
- Fertagro. Protector® NM. Disponível em: <<http://fertagro.com.br/#section-produtos>>. Acesso em: 08 mai. 2018.
- Timacagro: Nemastop. Disponível em: <<http://www.timacagro.com.br/tecnologia/nemastop/>>. Acesso em: 08 mai. 2018.
- Gottlieb D, Oka Y, Daniel-Bem B, Cohen Y. Dry Mycelium of *Penicillium chrysogenum* protects cucumber and tomato plants against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. Phytoparasitica. 2003 Jun;31(3): 217-225, doi:10.1007/BF02980831.
- Lopes EA, Ferraz S, Ferreira PA, Freitas LG, Dhingra OD, Gardiano CG, Carvalho SL. Potencial de isolados fúngicos nematóficos no controle de *Meloidogyne javanica*. Nemat. Bras. 2007 Mar;31(2):20-26.

12. Santiago DC, Homechin M, Silva JFV, Ribeiro ER, Gomes BC, Santoro PH. Seleção de isolados de *Paecilomyces lilacinus* (Thom.) Samsom para controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. Ciênc Rural. 2006 Jul-Aug;36(4):1055-1064, doi:10.1590/S0103-84782006000400003.
13. El-Shennawy MZ, Khalifa EZ, Ammar MM, Mousa EM, Hafez SL. Biological control of the disease complex on potato caused by root-knot nematode and *fusarium* wilt fungus. Nemat Medit. 2012 Dec;40(2):169-170.
14. Fernandes RH, Vieira BS, Fuga CAG, Lopes EA. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. Biosci J. 2014 Jan-Feb;30(1):194-200.
15. Oliveira, GRF, Silva MS, Proença SL, Bossolani JW, Camargo JÁ, Franco FS, Sá ME. Influência do *Bacillus subtilis* no controle biológico de nematoides e aspectos produtivos do feijoeiro. Braz J Biosys. 2017 Mar;11(1):47-58, doi:10.18011/bioeng2017v11n1p47-58.
16. Teixeira JL, Santos JS, Mendonça JJ, Gois LS, Lima IS, Marino RH. Teor de nitrogênio e de fósforo em resíduo de substrato de produção de cogumelos comestíveis. Proceedings of the 3th Reunião Nordestina de Ciência do Solo; 2016 Sept 12-15; Aracaju, Sergipe:UNIT/Embrapa; p.1-4.
17. Teixeira JL, Matos MP, Gois LS, Teixeira MS, Santos JS, Lima IS, Andrade KR, Marino RH. Compuesto orgánico a base de sustrato de producción de setas comestibles. Proceedings of 9th Congreso Latinoamericano de Micología; 2017 Aug 22-25; Lima: ALMYC-PERU; p.537.
18. Matos MP, Teixeira JL, Marino RH. Crescimento do tomateiro cereja em substrato colonizado pelo fungo comestível Shimeji. Proceedings of the 20th Congresso Brasileiro de Agrometeorologia; 2017 Aug 14-18; Petrolina, PE: Embrapa/UNIVASF; p.2331-2335.
19. Aslam S, Saifullah. Organic management of root knot nematodes in tomato with spent mushroom compost. Sarhad J Agric. 2013 Mar;29(1):63-69.
20. Mamiya Y. Attraction of the pinewood nematode to mycelium of some wood-decay fungi. Japanese J Nemat. 2006 Jun;36(1):1-9.
21. Hahn MH. Levantamento bibliométrico dos estudos com fungos nematófagos para o controle de *Meloidogyne* spp. e potencial de cogumelos no controle de *Meloidogyne javanica*. [Dissertação]. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná; 2017. 101p.
22. Pereira GMD, Ribeiro, KG, Fernandes PI, Vital MJS, Kasuya MCM, Zilli JE. Ocorrência de fungos endofíticos “dark septate” em raízes de *Oryza glumaepatula* na Amazônia. Pesq Agrop Bras. 2011 Mar;46(3): 331-334, doi:10.1590/S0100-204X2011000300015.
23. Yan JF, Broughton SJ, Yang SL, Gange AC. Do endophytic fungi grow through their hosts systemically? Fungal Ecology. 2015 Feb;13(1):53-59, doi:10.1016/j.funeco.2014.07.005.
24. Miranda JCC. Cerrado: Micorriza Arbuscular - ocorrência e manejo. Planaltina: Embrapa Cerrados; 2008. 169p.
25. Sousa CS, Soares ACF, Coimbra JL, Garrido MS, Machado GS. Fungos micorrízicos arbusculares no controle de *Meloidogyne incognita* em mudas de tomateiro. Revista Caatinga. 2010 Jan-Mar;23(1):15-20.
26. Anjos ECT, Cavalcante UMT, Gonçalves DMC, Pedrosa EMR, Santos VF, Maia LC. Interactions between an arbuscular mycorrhizal fungus *Scutellospora heterogama* and the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on sweet passion fruit (*Passiflora alata*). Braz Arch Biol Tecnol. 2010 Jul-Aug; 53(4):801-809, doi:10.1590/S1516-89132010000400008.
27. Scervino JM, Gottlieb A, Silvani VA, Pérgola M, Fernández L, Godeas AM. Exsudates of dark septate endophyte (DSE) modulate the development of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Gigaspora rosea*. Soil Biol Bioch. 2009 Aug;41(8): 1753–1756, doi:10.1016/j.soilbio.2009.04.021.
28. Jenkins WR. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. Plant Disease Reporter. 1964 Sep;48(9):692.
29. Coolen WA, D'Herde CJA. Method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent: State Nematology and Entomology Research Station; 1972. 77p.
30. Giovannetti M, Mosse B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. New Phytologist. 1980 Mar;84(3):489-500, doi:10.1111/j.1469-8137.1980.tb04556.x.
31. Ribeiro KG, Pereira GMD, Mosqueira CA, Baraúna AC, Vital MJS, Silva K, Zilli JE. Isolamento, armazenamento e determinação da colonização por fungos “dark septate” a partir de plantas de arroz. Revista Agro@ambiente on-line. 2011 May-Aug;5(2):97-105, doi:10.18227/1982-8470ragro.v5i2.535.
32. Heijden MGA, Martin FM, Selosse MA, Sanders IR. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. New Phyt. 2015 Feb;205(4):1406-1423, doi:10.1111/nph.13288.
33. 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. 2013 Apr;87(2): 319-330, doi:10.1007/s10457-012-9553-1.

34. Folli-Pereira MS, Meira-Haddad LS, Bazzolli DMS, Kasuya MCM. Micorriza arbuscular e a tolerância das plantas ao estresse. *Revista Brasileira de Ciências do Solo*. 2012 Nov-Dec;36(6):1663-1679, doi:10.1590/S0100-06832012000600001.
35. Santos TT, Varavallo MA. Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. 2011 Jul-Dec;32(2):199-212, doi:10.5433/1679-0367.2011v32n2p199.
36. Sufiate BL, Soares FEF, Moreira SS, Gouveia AS, Monteiro TSA, Freitas LG, Queiroz JH. Nematicidal action of *Pleurotus eryngii* metabolites. *Bioc Agric Biotech*. 2017 Oct;12(1):216-219, doi:10.1016/j.bcab.2017.10.009.
37. Haddad LSM. Efeito de fungos micorrízicos arbusculares sobre o parasitismo do nematoide de galhas em plantas de bananeira micropropagadas. Disponível em: <<http://buscatextual.cnpq.br/buscatextual/visualizacv.do?id=K4766938Z0>>. Acesso em 08 mai. 2018.
38. Graham JH, Linderman RG, Menge JA. Development of external hyphae by different isolates of mycorrhizal *Glomus* spp. in relation to root colonization and growth of Troyer citrange. *New Phytologist*. 1982 Jun;91(1):183-189, doi:10.1111/j.1469-8137.1982.tb03347.x.
39. Dias CR, Schwan AV, Ezequiel DP, Sarmento MC, Ferraz, S. Efeito de extratos aquosos de plantas medicinais na sobrevivência de juvenis de *Meloidogyne incognita*. *Nemat. Bras*. 2000 Mar;24(2):203-210.
40. Santos JS, Santos JFS, Lopes LJO, Mendonça JJ, Holanda FSR, Marino RH Arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytic fungi on the biomass development of vetiver grass. *Rev Caatinga*. 2018 Jul-Set; 31(3):602-611.
41. Camili EC, Benato EA, Pascholati SF, Cia P. Extrato de *Agaricus blazei* e *Lentinula edodes* no controle pós-colheita de mofo cinzento em uva 'Itália'. *Appl Res Agrotec*. 2009 May-Aug;2(2):155-162, doi:10.5777/paet.v2i2.653
42. Tonucci-Zanardo NM, Pascholati SF, Di Piero RM. *In vitro* antimicrobial activity of aqueous extracts from *Lentinula edodes* isolates against *Colletotrichum sublineolum* and *Xanthomonas axonopodis* pv. *Passiflorae*. *Summa Phytopathologica*. 2015 Jan-Mar;41(1):13-20, doi:10.1590/0100-5405/1995
43. Arruda RS, Mesquini RM, Shwan-Estrada KRF, Nascimento JF. Efeito de extratos de cogumelos na indução de fitoalexinas e no controle de oídio da soja em casa de vegetação. *Biosc J*. 2012 Mar-Apr;28(2):164-172.