

Lundoi Tobias Lee  
Livia Martinez Abreu Soares Costa  
Eduardo Alves  
Ludwig Heinrich Pfenning  
John Andrew Pecchia  
Diego Cunha Zied  
Eustáquio Souza Dias

## ATIVIDADE ANTAGONISTA DE *Bacillus* spp. SOBRE *Lecanicillium fungicola* POR DIFERENTES MÉTODOS

### RESUMO

A doença da bolha seca é uma das doenças mais relevantes no cultivo de *Agaricus bisporus*, causada pelo fungo *Lecanicillium fungicola*. Em função da falta de regulamentação do uso de pesticidas para a cultura no Brasil, tem-se buscado métodos eficientes para o controle desta doença. O controle biológico pode ser uma alternativa, entretanto, a eficácia desse controle depende da seleção de cepas com propriedades antagonistas. Neste contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar o efeito antagonista *in vitro* de dois isolados de bactérias (*Bacillus* sp. - M17 e *Bacillus* sp. - M18), isoladas de cogumelos champignon. Essas bactérias foram testadas sobre quatro isolados de *L. fungicola* utilizando-se quatro métodos distintos: cultura pareada, patógeno sobre o antagonista, compostos voláteis e compostos termoestáveis. Todos os métodos foram comparados com o tratamento controle. Em todos os métodos, os dois isolados bacterianos apresentaram atividade antagonista e, dentre os métodos testados, o que apresentou maior porcentagem de inibição foi o do patógeno sobre o antagonista. Esses resultados sugerem que os isolados bacterianos e seus efeitos antagônicos sobre *L. fungicola* podem ser promissores no desenvolvimento de um produto comercial para o controle biológico de *L. fungicola* no cultivo do cogumelo *A. bisporus*, podendo tornar-se uma alternativa ao uso dos pesticidas químicos.

**Palavras-chave:** Champignon. Cogumelo. Controle biológico. Doença da bolha seca.

## ANTAGONIST ACTIVITY OF *Bacillus* spp. ABOUT *Lecanicillium fungicola* BY DIFFERENT METHODS

### ABSTRACT

Dry bubble disease is one of the most relevant diseases in the cultivation of the button mushroom (*Agaricus bisporus*) in Brazil, caused by *Lecanicillium fungicola*. Due to the lack of regulation of the use of pesticides for mushroom cultivation in Brazil, efficient methods have been sought to control this disease. Biological

control may be an alternative, however, the effectiveness of this control depends on the selection of strains with antagonistic properties. In this context, the objective of this work was to evaluate the antagonistic effect *in vitro* of two bacterial isolates (*Bacillus* sp. - M17 and *Bacillus* sp. - M18), obtained from fresh button mushrooms. These bacteria were tested on four isolates of *L. fungicola* using four different methods: paired culture, pathogen on the antagonist, volatile compounds and thermostable compounds. All methods were compared with the control treatment. In all methods, the two bacterial isolates showed antagonist activity and, among the tested methods, the one with the highest percentage of inhibition was that of the pathogen over the antagonist. These results suggest that bacterial isolates and their antagonistic effects on *L. fungicola* may be promising in the development of a commercial product for the biological control of *L. fungicola* in the cultivation of *A. bisporus*, and may become an alternative to the use of chemical pesticides.

**Key words:** Biological control. Button mushroom. Dry bubble disease. Mushroom.

## 1. INTRODUÇÃO

Os cogumelos são uma cultura alimentar de grande importância para milhares de pessoas em todo o planeta. O champignon (*Agaricus bisporus*) é um dos cogumelos mais cultivados no mundo, sendo considerado um exemplo de produção sustentável, devido ao fato de seu cultivo ser realizado em substratos produzidos a partir de resíduos agrícolas, como palha de trigo, bagaço de cana e outros (KERTESZ & THAI, 2018).

O cultivo normalmente ocorre em substrato orgânico obtido por um processo de compostagem, seguido de pasteurização (FIGUEIREDO & DIAS, 2014). O composto assim preparado é inoculado com o micélio

de *A. bisporus* e incubado a temperatura ambiente (~25° C) até a sua completa colonização. Ao composto colonizado, é adicionada uma camada de cobertura, normalmente à base de solo ou turfa de musgo, para manter o composto em condições ambientais ideais e para favorecer a produção de cogumelos (DIAS, 2010).

Existe uma ampla comunidade microbiana no substrato e na camada de cobertura, que desempenham papel importante inclusive na indução da frutificação de *A. bisporus* (McGEE, 2018). Entretanto, essa microbiota pode abrigar também patógenos ou microrganismos competidores, os quais podem trazer prejuízos na produção. Por isso, tanto o composto como a camada de cobertura

passam por processos de pasteurização ou desinfestação para eliminar esses microrganismos indesejáveis.

Entretanto, além do substrato de cultivo e da camada de cobertura, patógenos podem vir de outras fontes, inclusive veiculados por insetos vetores. Um desses patógenos é o fungo *Lecanicillium fungicola*, causador da doença da bolha seca. No Brasil não há pesticidas registrados pelo Ministério da Agricultura para o controle de pragas e doenças no cultivo de cogumelos. Apesar disso, há relatos de que produtos registrados para outras culturas sejam utilizados no cultivo de cogumelos, em função da falta de opções viáveis (ZIED et al., 2015). Os sintomas causados pela doença da bolha seca variam desde pequenas lesões necróticas a cogumelos deformados, sendo que os sintomas e a gravidade da doença dependem do período da infecção, o que impacta diretamente o nível das perdas econômicas (BERENDSEN et al., 2010).

A utilização de antagonistas naturais no combate de pragas ou doenças é uma estratégia de grande potencial. Este tipo de abordagem favorece a produção de alimentos mais saudáveis, além de minimizar problemas ambientais e de saúde, normalmente causados pela utilização de pesticidas químicos. Portanto, o controle biológico deve ser sempre considerado como uma das alternativas para substituir os agrotóxicos. Diversos produtos à base de bactérias do gênero *Bacillus* já foram

disponibilizados para comercialização como pesticidas biológicos. Biopesticidas à base de *Bacillus* já são utilizados em vários setores da agricultura convencional (PÉREZ-GARCÍA et al., 2011), o controle biológico foi recentemente proposto como uma possível abordagem para combater a contaminação de brotos de diversas culturas vegetais durante a produção (CHAHAR et al., 2023) e podem, portanto, ser uma das opções para o cultivo de cogumelos no Brasil.

Dentro desse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade antagonista de dois isolados de *Bacillus* spp., obtidos a partir de cogumelos frescos de *A. bisporus*, contra quatro diferentes cepas de *L. fungicola* por diferentes métodos.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### Obtenção dos isolados de *Lecanicillium fungicola*

O isolado LTL02 foi gentilmente cedido pela Universidade Estadual Paulista (UNESP), câmpus Dracena. Os isolados (LTL01 e LTL03) de *L. fungicola* foram obtidos a partir do isolamento de cogumelos *A. bisporus* com sintomas da doença, coletados diretamente do local de cultivo, localizado em Barbacena – Minas Gerais, Brasil. Para realizar o isolamento a partir dos cogumelos foram selecionados aqueles com sintomas típicos da doença, porém, ainda em bom estado fisiológico, para minimizar a presença de saprófitos. Os cogumelos foram

acondicionados em sacos de papel e levados para o laboratório. Após lavar os basidiocarpos em água corrente para remoção das sujidades, foram cortados fragmentos do basidiocarpo que apresentavam sintomas da doença, cada fragmento contendo uma parte afetada e uma parte sadia. Os fragmentos foram submetidos ao procedimento de assepsia: 30 segundos em álcool 70%, posteriormente um minuto em hipoclorito 2% e, por fim, lavados em água destilada estéril por 3x e transferidos para placa com papel filtro, com o intuito de remover o excesso de água. Oito fragmentos foram depositados equidistantes em placas de Petri contendo o meio de cultura, sendo utilizados BDA (batata 200g/L, dextrose 15g/L e ágar 15g/L) e Extrato de Malte 2%, ambos contendo cloranfenicol (0,05g/L) e estreptomicina (0,05g/L). As placas foram incubadas em B.O.D (Biochemical Oxygen Demand) à 25° C. Em seguida, os isolados de *L. fungicola* foram purificados e a identificação da espécie foi confirmada por taxonomia clássica e por sequenciamento da região ribossomal. O isolado LTL04 foi isolado de cogumelos coletados de produção comercial da região de Domingos Martins, Espírito Santo – Brasil, segundo a mesma técnica de isolamento e a identificação.

#### **Obtenção de culturas monospóricas de *L. fungicola***

Após a confirmação da presença das estruturas reprodutivas assexuadas, foi

preparada uma suspensão de esporos em solução salina 0,85% a partir de fragmentos da colônia. Após diluições sucessivas e contagem em câmara de Neubauer, uma alíquota de 0,1 mL foi transferida para placa com ágar-ágar (20g de ágar/L) e espalhada com auxílio de alça de Drigalsky. Com o auxílio de microscópio óptico, conídios que se encontravam mais isolados foram transferidos unitariamente com auxílio de uma agulha para uma placa contendo meio ágar malte.

#### **Identificação molecular**

A massa micelial do fungo foi obtida em meio caldo malte 2%, inoculado com uma suspensão de conídios (10<sup>6</sup> mL<sup>-1</sup>), e incubado por 5 dias a 25° C, sob agitação de 100 RPM. A massa micelial foi filtrada e lavada com água destilada. A extração de DNA foi realizada com utilização do Kit Wizard Genomic DNA (Promega), de acordo com as recomendações do fabricante. O DNA extraído foi utilizado para amplificação da região ribossomal, utilizando-se como iniciadores os primers ITS5 (5' GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG 3') e ITS4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC3') (WHITE et al., 1990).

#### **Isolamento de bactérias a partir de basidiocarpos de *A. bisporus***

As amostras foram obtidas de local de cultivo de champignon, no município de Andradas – MG, sendo transportadas à

temperatura ambiente até o laboratório. Foram selecionados cogumelos com sintomas causados por *L. fungicola*. As amostras foram armazenadas em câmara fria (4-8° C) até o momento do processamento. Para o isolamento de bactérias a partir do basidiocarpo, foram cortados fragmentos com partes sadias e acometidas pela doença, esses fragmentos foram depositados de forma equidistante em placas de Petri com os meios Ágar Nutriente e BDA. Parte das amostras foi submetida ao procedimento de assepsia, conforme descrito, enquanto que outra parte foi transferida direto para as placas, as quais foram incubadas em B.O.D a 25° C. Posteriormente, os isolados foram submetidos à purificação e identificação.

Os isolados bacterianos que passaram previamente pelas técnicas de identificação fenotípica, posteriormente foram identificados utilizando-se um sistema Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation - Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS) (Microflex-Bruker Daltonik/ BioTyper™). Uma cepa de *Escherichia coli* K12 foi utilizada como padrão para calibração externa do equipamento, de acordo com a metodologia proposta por Lima-Neto et al. (2014), sendo que as células foram cultivadas em meio ágar nutriente por 18h a 25°C.

### **Métodos de avaliação de atividade antagonista**

Após a identificação, foram selecionados dois isolados de *Bacillus* spp. para avaliar a atividade antagonista sobre *L. fungicola*. Quatro métodos de avaliação foram utilizados, de acordo com Sobrinho et al. (2018) com modificações. No primeiro método, utilizou-se a técnica de cultura pareada. Nesta técnica, um disco de BDA de 9 mm de diâmetro, colonizado pelo fungo *L. fungicola*, foi colocado a 1,5 cm de distância da borda esquerda de uma placa de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo 20 mL de meio BDA e, com o auxílio de uma alça de inoculação, uma estria simples da cepa de *Bacillus* sp. foi feita do lado direito, a 1,5 cm de distância da borda da placa.

Um segundo método consistiu no cultivo do patógeno sobre a cultura do antagonista. Para isto, uma placa de Petri com meio BDA foi estriada com *Bacillus* sp., e imediatamente um disco de 9 mm de meio BDA, colonizado por *L. fungicola* foi transferido para o centro da placa de Petri.

Em um terceiro método, avaliou-se a inibição do crescimento de *L. fungicola* por meio da produção de metabólitos termoestáveis por *Bacillus* sp. Para tanto, placas de Petri, contendo 20 mL de meio BDA, foram estriadas com *Bacillus* sp. e incubadas em câmara de B.O.D à 25° C por 48 horas, no escuro. Após este período as placas foram autoclavadas a 121 °C por 15 minutos e em seguida acondicionadas em câmara de fluxo laminar para solidificação do meio em ambiente asséptico. Após a

solidificação do meio, discos de meio BDA colonizados por *L. fungicola* foram colocados no centro das placas para posterior avaliação do crescimento.

No quarto método, a atividade antagonista foi avaliada por meio da produção de metabólitos voláteis. Este método consistiu na sobreposição de bases de placas de Petri, contendo meio BDA, inoculado com discos de meio BDA, medindo 9 mm de diâmetro, colonizado por *L. fungicola*, sobre bases de placas de Petri, contendo meio BDA, estriado com *Bacillus* sp. Como tratamento controle, discos de meio BDA, colonizados pelos isolados de *L. fungicola*, foram adicionados no centro de placas de Petri contendo apenas meio BDA.

Todos os tratamentos foram incubados no escuro à temperatura constante de 25 °C. A avaliação consistiu em medir, com o auxílio de paquímetro digital, o diâmetro médio das colônias de *L. fungicola*, 15 dias após as inoculações, período em que, um dos isolados no tratamento controle, atingiu o crescimento total a placa. O diâmetro das colônias foi registrado a cada 48h. O tamanho da colônia de cada amostra teste foi comparado com a dimensão dos controles. Os resultados foram expressos em termos de tamanho do diâmetro do halo do

crescimento microbiano. A porcentagem de inibição do número de colônias (PI) foi calculada conforme Billerbeck et al. (2001), de acordo com a equação:  $PI = (C - T / C - 9) \times 100$ , sendo: C = diâmetro médio do micélio no controle; T= diâmetro médio do micélio no tratamento.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado (DIC), em arranjo fatorial 4x5 (quatro isolados de *L. fungicola*, quatro métodos de avaliação do antagonismo + um tratamento controle) com cinco repetições. As variáveis obtidas nos testes foram analisadas por meio do programa estatístico SISVAR®, com análise de variância e comparação de médias pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância (FERREIRA, 2014).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados obtidos, foram observadas diferenças significativas tanto entre as cepas, como para os métodos de avaliação e ainda uma interação entre cepas e métodos. O crescimento micelial das quatro cepas de *L. fungicola* testadas foram inibidas significativamente pelas duas cepas de *Bacillus* sp, quando comparadas ao tratamento controle (Tabela 1).

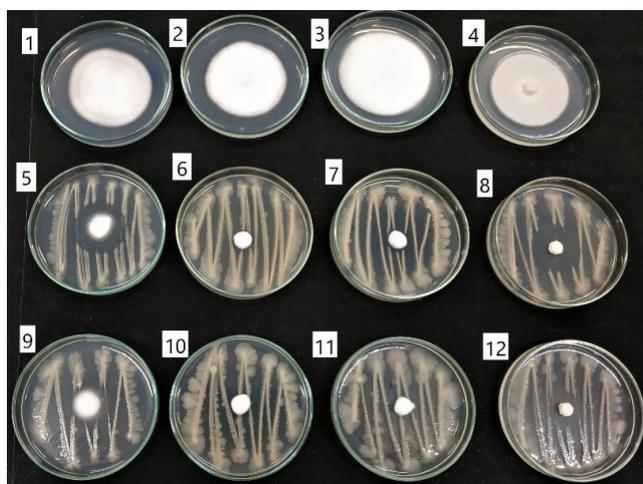
**Tabela 1.** Diâmetro médio de crescimento micelial e porcentagem de inibição (PI) das diferentes cepas de *L. fungicola*, submetidos a diferentes métodos de antagonismo de diferentes cepas de *Bacillus* sp.

Antagonista	Fungo	Controle			Cultura Pareada		Patógeno sobre o Antagonista		Compostos voláteis		Compostos Termoestáveis	
		DM (mm)	DM (mm)	PI (%)	DM (mm)	PI (%)	DM (mm)	PI (%)	DM (mm)	PI (%)	DM (mm)	PI (%)
<i>Bacillus</i> sp. (M17)	01	66	38,3	41b	21,8	72a	33,5	50b	16,8	81a		
	02	63	39,8	40b	14,1	87a	32,1	54b	18,5	79a		
	03	78	40,3	51b	15	88a	35,1	58b	26,8	71a		
	04	65	36	48b	11,5	92a	36,8	46b	21	75a		
<b>CV= 16,80</b>												
<i>Bacillus</i> sp. (M18)	01	66	35,5	46c	22,3	71b	34,1	49c	21	74b		
	02	63	27,1	63c	13,1	89a	45	31c	20,6	75b		
	03	78	38,8	53c	13,1	91a	43,5	46c	24,1	75b		
	04	65	36,3	47c	0	100a	32,3	54c	20,5	76b		
<b>CV= 16,53</b>												

\*Letras iguais não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. (DM: diâmetro médio, PI: porcentagem de inibição).

Fonte: Autores (2023)

O método de antagonismo em que as cepas de *Bacillus* sp. promoveram as maiores porcentagens de inibição do crescimento micelial dos isolados de *L. fungicola* foi: Patógeno sobre o Antagonista, a cepa *Bacillus* sp. (M17) apresentou inibição entre 72 e 92%, a cepa *Bacillus* sp. (M18) apresentou inibição de 71 a 100%, como apresentado na Figura 1.



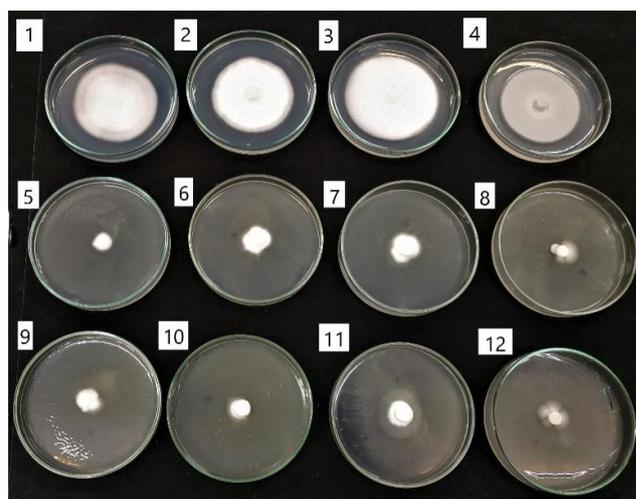
**Figura 1.** Antagonismo pelo método de patógeno sobre o antagonista entre cepas de *Bacillus* sp. (M17) (placas 5, 6, 7 e 8), e *Bacillus* sp. (M18) (placas 9, 10, 11 e 12) sobre diferentes cepas de *L. fungicola*: LTL01 (placas 1, 5 e 9), LTL02 (placas 2,6 e 10), LTL03 (placas 3,7 e 11) e LTL04 (placas 4, 8 e 12), como Controle (placas 1, 2, 3 e 4). Fonte: Autores (2022).

O objetivo deste estudo é avaliar o efeito inibitório de *Bacillus* contra *L. fungicola*, entretanto, observou-se um efeito inibitório recíproco. É possível observar a inibição do crescimento micelial de *L. fungicola* pelas duas cepas de *Bacillus*, uma vez que as culturas fúngicas não conseguiram crescer senão apenas alguns milímetros. Para LTL04, observou-se uma inibição mais severa, uma vez que o crescimento do fungo restringiu-se praticamente ao disco inoculado na placa. LTL01 foi a cepa de *L. fungicola* que apresentou maior crescimento micelial, entretanto, a inibição do crescimento micelial é bastante evidente, quando comparado ao controle. Não se observou diferenças entre as duas cepas de *Bacillus*, uma vez que os fungos apresentaram o mesmo padrão de crescimento na presença das duas cepas bacterianas. Além do efeito inibitório das bactérias sobre *L. fungicola*, ficou muito claro também que este fungo produz metabólitos que inibem o

crescimento das culturas de *Bacillus* utilizadas neste trabalho. Entretanto, este efeito foi observado apenas para as cepas LTL01 e LTL04 de *L. fungicola*. Além disso, observou-se que o halo de inibição foi maior para a cepa M17 em comparação à cepa M18 de *Bacillus*. É interessante observar que, para *L. fungicola* LTL04, para o qual o crescimento micelial foi mínimo, o halo de inibição sobre a foi evidente. Isso demonstra que uma elevada atividade metabólica de antagonismo à bactéria, sendo possível que os metabólitos inibitórios vieram do disco inoculado na placa, uma vez que o crescimento micelial foi quase nulo. Considerando que esses organismos estão presentes naturalmente no solo, é natural que ambos tenham desenvolvido mecanismos de antagonismo entre si. Por isso, o solo é uma fonte comum na busca de novos microrganismos produtores de metabólitos de potencial farmacêutico. Neste contexto, a cepa LTL04 poderia ser melhor avaliada com respeito à produção destes metabólitos para o controle de outros microrganismos, em especial para o controle de doenças do solo que acometem o sistema radicular das plantas.

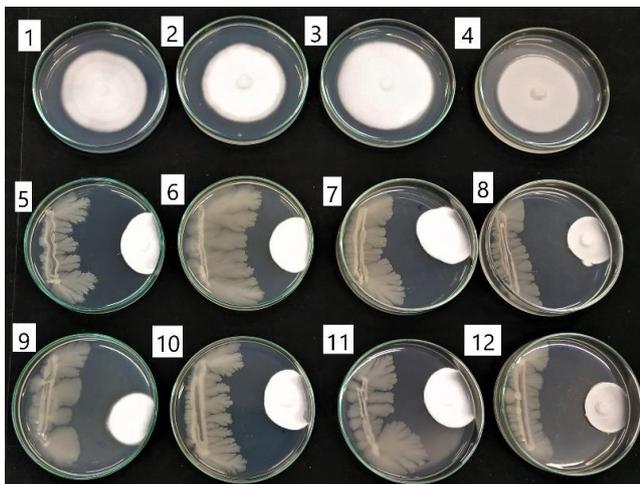
O segundo método que permitiu observar maior porcentagem de inibição das diferentes cepas de *L. fungicola* foi o método de utilização de compostos termoestáveis. De acordo com este método, observou-se que *Bacillus* sp. M17 apresentou inibição entre 71 e 81% sobre *L. fungicola*, enquanto que, para a cepa M18, este efeito variou de 74 a 76% (Figura 2). Apesar desses resultados serem

muito interessantes, novos ensaios deverão ser conduzidos utilizando culturas líquidas, as quais, após a autoclavagem possam ser purificadas e aplicadas em meios de cultivo novos, para evitar a interferência de outros fatores, uma vez um meio de cultura sólido autoclavado, pode ter sofrido muitas alterações, tornando o cultivo do fungo inviável.



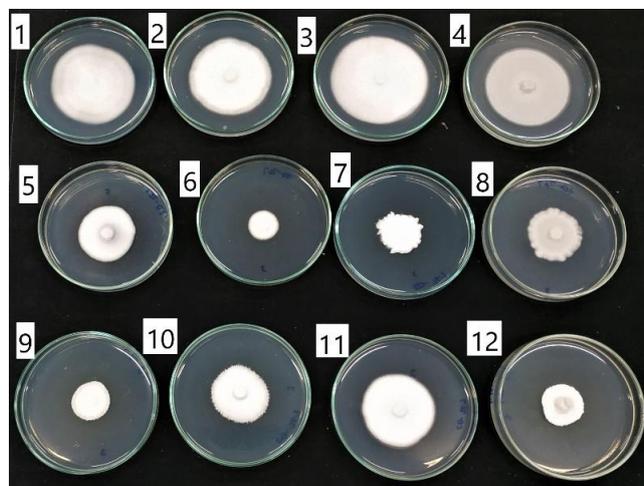
**Figura 2.** Antagonismo pelo método de compostos termoestáveis entre cepas de *Bacillus* sp. (M17) (placas 5, 6, 7 e 8), e *Bacillus* sp. (M18) (placas 9, 10, 11 e 12) sobre diferentes cepas de *L. fungicola*: LTL01 (placas 1, 5 e 9), LTL02 (placas 2,6 e 10), LTL03 (placas 3,7 e 11) e LTL04 (placas 4, 8 e 12), como Controle (placas 1, 2, 3 e 4). Fonte: Autores (2022).

O método de antagonismo por culturas pareadas apresentou inibição de 40 a 51% para a cepa *Bacillus* sp. (M17), enquanto que a cepa *Bacillus* sp. (M18) apresentou inibição entre 46 e 63% sobre *L. fungicola* (Figura 3).



**Figura 2.** Antagonismo pelo método de cultura pareada entre cepas de *Bacillus* sp. (M17) (placas 5, 6, 7 e 8), e *Bacillus* sp. (M18) (placas 9, 10, 11 e 12) sobre diferentes cepas de *L. fungicola*: LTL01 (placas 1, 5 e 9), LTL02 (placas 2, 6 e 10), LTL03 (placas 3, 7 e 11) e LTL04 (placas 4, 8 e 12), como Controle (placas 1, 2, 3 e 4). Fonte: Autores (2022).

A inibição encontrada pelo método de compostos voláteis sobre as diferentes cepas de *L. fungicola* para *Bacillus* sp. (M17) variou entre 46 e 58% e os valores encontrados para *Bacillus* sp. (M18) foi entre 31 e 54% (Figura 4). Segundo Gou et al. (2023), o efeito de controle biológico de compostos voláteis microbianos em doenças pós-colheita tornou-se um *hotspot*.



**Figura 3.** Antagonismo pelo método de compostos voláteis entre cepas de *Bacillus* sp. (M17) (placas 5, 6, 7 e 8), e *Bacillus* sp. (M18) (placas 9, 10, 11 e 12) sobre diferentes cepas de *L. fungicola*: LTL01 (placas 1, 5 e 9), LTL02 (placas 2, 6 e 10), LTL03 (placas 3, 7

e 11) e LTL04 (placas 4, 8 e 12), como Controle (placas 1, 2, 3 e 4). Fonte: Autores (2022).

As quatro cepas de *L. fungicola* tiveram seu crescimento micelial inibido pelas duas cepas de *Bacillus* sp. Em todos os métodos testados, a porcentagem de inibição variou em função do método utilizado e das cepas tanto de fungos como de bactérias. Os resultados obtidos demonstram a ação antagonista de *Bacillus* sp. sobre o fungo *L. fungicola*, concordando com os resultados de Stanojević et al. (2019). Os autores avaliaram 33 cepas de *Bacillus* spp. isoladas do substrato de cogumelos, através do método de cultura pareada e encontraram porcentagem de inibição variando de 32 a 88%. Segundo os autores, apesar das variações, todas as cepas testadas apresentaram algum efeito de inibição do crescimento do patógeno. Riahi, Hashemi, e Sharifi, (2012), também testaram três bactérias isoladas de substrato de cogumelos quanto ao seu efeito antagonístico sobre o crescimento de *L. fungicola*, e observaram que cepas de *Bacillus* sp. apresentaram efeito inibitório que variou entre 55 a 61%.

Dentre os métodos avaliados, o que mostrou maior inibição das cepas de *L. fungicola* foi o método do patógeno sobre o antagonista, sendo que *Bacillus* sp. (M18) apresentou 100% de inibição sobre *L. fungicola* LTL04. Vários estudos relataram a atividade antagonista de cepas de *Bacillus* sp. isoladas de cogumelos e substrato de *A. bisporus* sobre fungos patogênicos (LIU et al.;

2015; MILIJAŠEVIĆ-MARČIĆ et al., 2017; STANOJEVIĆ et al., 2016).

De acordo com o teste de antagonismo pelo método de compostos termoestáveis, os metabólitos produzidos pelas duas cepas de *Bacillus* sp. sobreviveram ao processo de autoclavagem a 121°C por 15 minutos. Considerando que estes compostos mantiveram as suas propriedades antifúngicas, os mesmos podem ser considerados metabólitos termoestáveis. Esta propriedade é muito importante para o desenvolvimento de um produto natural, porém, sem a presença das células microbianas.

As bactérias naturalmente fazem parte dos diferentes estágios de desenvolvimento dos cogumelos, auxiliando na degradação do substrato, produzindo metabólitos importantes para a nutrição do cogumelo e auxiliando na indução da frutificação dos cogumelos. Conhecer a dinâmica, funcionalidade e a estrutura do microbioma dos cogumelos são ferramentas que auxiliam na melhoria dos métodos de cultivo e produção. O conhecimento de todas essas interações ecológicas é importante para a seleção de novos agentes de controle biológico de pragas e doenças no cultivo de cogumelos, com o potencial de substituir agrotóxicos extensivamente utilizados (CARRASCO & PRESTON, 2020).

#### 4. CONCLUSÃO

As duas cepas de *Bacillus* sp isoladas de cogumelos *A. bisporus* apresentaram

atividade antifúngica sobre as quatro cepas de *L. fungicola*. A cepa de *Bacillus* sp. com maior porcentagem de inibição foi a M18. Além disso, observou-se também que duas cepas de *L. fungicola* apresentaram atividade de inibição sobre as duas cepas de *Bacillus* sp.

#### REFERÊNCIAS

- BERENDSEN, Roeland L. et al. *Lecanicillium fungicola*: causal agent of dry bubble disease in white-button mushroom. **Molecular plant pathology**, v. 11, n. 5, p. 585-595, 2010. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00627.x>
- BILLERBECK, Virginia G. et al. Effects of *Cymbopogon nardus* (L.) W. Watson essential oil on the growth and morphogenesis of *Aspergillus niger*. **Canadian journal of microbiology**, v. 47, n. 1, p. 9-17, 2001. <https://doi.org/10.1139/w00-117>
- CARRASCO, Jaime; PRESTON, Gail M. Growing edible mushrooms: a conversation between bacteria and fungi. **Environmental microbiology**, v. 22, n. 3, p. 858-872, 2020. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14765>
- CHAHAR, Madhvi et al. Control of Salmonella in mung bean sprouts by antagonistic spore-forming Bacilli. **Food Control**, v. 143, p. 109276, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109276>
- DIAS, Eustáquio Souza. Mushroom cultivation in Brazil: challenges and potential for growth. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 34, p. 795-803, 2010. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542010000400001>
- FERREIRA, Daniel Furtado. Sisvar: a Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 38, p. 109-112, 2014. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542014000200001>

FIGUEIRÊDO, Vinícius Reis de; DIAS, Eustáquio Souza. Cultivo do champignon em função da temperatura. **Ciência Rural**, v. 44, p. 241-246, 2014.

<https://doi.org/10.1590/S0103-84782013005000155>

GUO, Jianheng et al. Antifungal activity of volatile compounds from *Bacillus tequilensis* XK29 against *Botrytis cinerea* causing gray mold on cherry tomatoes. **Postharvest Biology and Technology**, v. 198, p. 112239, 2023.

<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.112239>

KERTESZ, Michael A.; THAI, Meghann. Compost bacteria and fungi that influence growth and development of *Agaricus bisporus* and other commercial mushrooms. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, n. 4, p. 1639-1650, 2018.

<https://doi.org/10.1007/s00253-018-8777-z>

LIMA-NETO, Reginaldo et al. Application of MALDI-TOF MS for requalification of a *Candida* clinical isolates culture collection. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, p. 515-522, 2014.

<https://doi.org/10.1590/S1517-83822014005000044>

LIU, Can et al. Biocontrol activity of *Bacillus subtilis* isolated from *Agaricus bisporus* mushroom compost against pathogenic fungi. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 26, p. 6009-6018, 2015.

<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b02218>

MCGEE, Conor F. Microbial ecology of the *Agaricus bisporus* mushroom cropping process. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 102, n. 3, p. 1075-1083, 2018.

<https://doi.org/10.1007/s00253-017-8683-9>

MILIJASJEVIĆ-MARČIĆ, Svetlana et al. Biological control of green mould on *Agaricus bisporus* by a native *Bacillus subtilis* strain from mushroom compost. **European Journal of Plant Pathology**, v. 148, n. 3, p. 509-519, 2017.

<https://doi.org/10.1007/s10658-016-1107-3>

PÉREZ-GARCÍA, Alejandro; ROMERO, Diego; DE VICENTE, Antonio. Plant protection and growth stimulation by

microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture. **Current opinion in biotechnology**, v. 22, n. 2, p. 187-193, 2011.

<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.12.003>

RIahi, Hossein; HASHEMI, Mehrnaz; SHARIFI, Kasra. The effect of spent mushroom compost on *Lecanicillium fungicola* *in vivo* and *in vitro*. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v. 45, n. 17, p. 2120-2131, 2012.

<https://doi.org/10.1080/03235408.2012.721684>

SOBRINHO, Geraldo et al. Atividade antagonista de *Bacillus subtilis* sobre dois isolados de *Fusarium solani* do maracujazeiro, por diferentes métodos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 15, n. 28, 2018. [shorturl.at/klmM8](http://shorturl.at/klmM8)

STANOJEVIĆ, Olja et al. Biological control of green mould and dry bubble diseases of cultivated mushroom (*Agaricus bisporus* L.) by *Bacillus* spp. **Crop protection**, v. 126, p. 104944, 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.104944>

STANOJEVIĆ, Olja et al. Isolation and identification of *Bacillus* spp. from compost material, compost and mushroom casing soil active against *Trichoderma* spp. **Archives of Biological Sciences**, v. 68, n. 4, p. 845-852, 2016.

<https://doi.org/10.2298/ABS151104073S>

ZIED, Diego Cunha et al. Tolerance to *Lecanicillium fungicola* and yield of *Agaricus bisporus* strains used in Brazil. **Scientia Horticulturae**, v. 190, p. 117-122, 2015.

<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.04.021>

---

**Autor (a) negrito, Times New Roman, 10**  
Mini-curriculo, Times New Roman, 10

---

---

**Autor (a) negrito, Times New Roman, 10**  
Mini-curriculo, Times New Roman, 10

---

---

**Autor (a) negrito, Times New Roman, 10**  
Mini-curriculo, Times New Roman, 10

---

---

**Autor (a) negrito, Times New Roman, 10**  
Mini-curriculo, Times New Roman, 10

---

---

**Autor (a) negrito, Times New Roman, 10**

Mini-currículo, Times New Roman, 10

---

---

**Autor (a) negrito, Times New Roman, 10**

Mini-currículo, Times New Roman, 10

---

---

**Autor (a) negrito, Times New Roman, 10**

Mini-currículo, Times New Roman, 10

---