Recital

Revista de Educação,
Ciência e Tecnologia de Almenara/MG.

EFEITO NEMATICIDA DE DIFERENTES ESPÉCIES DE *Bacillus* SOBRE *Meloidogyne* sp.

Nematicidal effect of different species of Bacillus on Meloidogyne sp.

Vitor Pereira de SOUSA
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais Campus Almenara MG
vitorpeira.s@gmail.com

Danuza Araújo de SOUZA
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais Campus Januária
danuza.souza@ifnmg.edu.br

Wellington Rodrigues da SILVA
Lallemand Plant Care
wrodrigues@lallemand.com

José Maria Gomes NEVES
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais Campus Almenara-MG
jose.neves@ifnmg.edu.br

Taison Souto SILVA
Instituto Federal do Norte de Minas Gerais Campus Almenara
taisonsouto@gmail.com

DOI: https://doi.org/10.46636/recital.v6i3.414

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar a ação nematicida de diferentes espécies de *Bacillus* sobre juvenis de segundo estádio de *Meloidogyne sp*. O experimento foi conduzido *in vitro*, em

delineamento inteiramente casualizado, com oito tratamentos e cinco repetições. Os isolados de *Bacillus* foram cultivados em meio de cultura TSA. A concentração celular da suspensão foi ajustada para OD = 0,5 em espectrofotômetro. Em microtubos tipo eppendorf de 1,5 ml, foram adicionados 50 µL de água salina contendo aproximadamente 30 J2 de *Meloidogyne sp.*, e 50 µL da suspensão de células bacterianas. Como controle, foi utilizado água destilada estéril. Os microtubos foram vedados com papel alumínio e incubados em B.O.D a 27°C e 12 horas de luz. Após 24 horas da aplicação, adicionou-se 10 µL de NaOH, em seguida, foi avaliado o número de nematoides mortos sob microscópio para cálculo da percentagem de mortalidade em cada tratamento. Entre as espécies de *Bacillus* avaliadas, *B. subtilis* e *B. methylotrophicus* apresentaram as maiores percentagens de mortalidade. *B. subtilis* e *B. methylotrophicus* demostraram potencial para o controle de nematoide das galhas.

Palavras-chave: Biocontrole. Rizobactérias. Meloidoginose. Fitonematoides.

Abstract

The object of this work was to evaluate the nematicidal action of different *Bacillus* species on the second stage juveniles of *Meloidogyne sp*. The experiment was conducted in vitro, in a completely randomized design, with eight treatments and five replicates. The *Bacillus* isolates were grown in TSA culture medium. The concentration of cells in the suspension was adjusted to OD = 0.5 using a spectrophotometer. In 1.5 ml eppendorf microtubes, 50 µL of saline water containing 30 second-stage J2 of Meloidogyne *sp*. and 50 µL of the bacterial cell suspension were added. Sterile distilled water was used as a control. The microtubes were sealed with aluminum foil and incubated in a B.O.D. at 27°C and 12 hours of light. After 24 hours of application, 10 µL of NaOH was added, then the number of dead nematodes was evaluated under a microscope to calculate the percentage of mortality in each treatment.Among the *Bacillus* species evaluated, *B. subtilis* and *B. methylotrophicus* showed the highest percentages of mortality. *B. subtilis* and *B. methylotrophicus* have potential for controlling gall nematodes.

Keywords: Biocontrol. Rhizobacteria. Meloidoginosis. Phytonematoides.

INTRODUÇÃO

Nematoides são vermes subcilíndricos de corpo filiforme, que ocorrem em diversos ambientes. Algumas espécies de nematoides parasitam plantas, sendo denominados de fitonematoides, o parasitismo em geral ocorre no interior de estruturas subterrâneas, como sistema radicular, rizomas, tubérculos e bulbos, já que os fitonematoides conseguem estabelecer sítios de alimentação nas células desses órgãos, porém, algumas espécies parasitam órgãos da parte aérea, como sementes, folhas e caules (Tejo; Fernandesa; Buratto, 2020; Ribeiro *et al*., 2019; Ferraz; Brown, 2016). Estima-se que esse grupo de fitopatógeno reduza em até 10% da produção agrícola mundial, causando perdas económicas estimadas em mais de 125 mil milhões de dólares por ano (Sikora; Molendijk; Desaeger, 2022).

Existe uma diversidade de gêneros de nematoides que infectam as principais espécies agrícolas cultivadas no país, todavia, os nematoides causadores de galhas (*Meloidogyne sp*.) estão entre os mais importantes (Oliveira, *et al*., 2018). Os fitonematoides do gênero *Meloidogyne*

constituem os mais agressivos, prejudiciais e economicamente importante, dado que, são polífagos, com uma diversidade de plantas hospedeiras suscetíveis, podendo infectar mais de 3.000 espécies de plantas (Gonzaga; Jesus, 2019; Trudgill; Blok, 2001). A principal sintomatologia da ocorrência desse patógeno é a formação de galhas ou engrossamentos nas raízes, além disso, sintomas reflexos são observados na parte aérea, devido ao dreno de nutrientes ocasionado no sistema radicular, tais como plantas de tamanho reduzido, sintomas de deficiência nutricional, manchas em reboleiras e murchas (Godoy *et al*., 2016; Morillo; Silva, 2015).

Hussain, Zouhar e Rysanek (2017) salientam que o manejo dos fitonematoides como um todo é difícil, devido à alta taxa de reprodução, ciclo de vida curto e a ampla gama de hospedeiros. Nessa perspectiva, o controle desses patógenos é complexo e depende de medidas integradas no sistema de produção. Entre essas medidas, o controle biológico vem sendo apontado como uma ferramenta no manejo integrado de pragas e doenças. Esse método baseia-se na utilização de organismos vivos, como fungos e bactérias, residentes no solo ou introduzidos no ambiente visando minimizar ou eliminar os patógenos ou pragas (Machado *et al*., 2012). Além disso, o controle biológico é uma alternativa para a redução do uso de agrotóxicos na agricultura, sendo assim, uma opção sustentável no controle de fitonematoides (Bettiol; Mafia; Castro, 2014).

Dentre os organismos empregados na produção de bionematicidas, as rizobactérias destacam-se, devido a sua utilização no controle de fitonematoides, assim como outros patógenos do solo (Neves *et al*., 2019). As rizobactérias apresentam a característica de sintetizarem diferentes compostos que atuam positivamente no crescimento vegetal, disponibilizando nutrientes e promovendo o crescimento das plantas, além de proporcionar a indução de resistência, sendo assim, são conhecidos como bactérias promotoras de crescimento (Oostendorp; Sikora, 1990; Miransari, 2014).

Entre as rizobactérias, as do gênero *Bacillus* ganham destaque, devido apresentarem algumas particularidades, como facilidade no processo de multiplicação em larga escala, assim como a capacidade de formar endósporos (Xiang *et al*., 2018; Mhatre *et al*., 2019). Essas apresentam elevado potencial no manejo de fitonematoides, especialmente os endoparasitas, como do gênero *Meloidogyne*, visto que, atuam na redução da eclosão dos ovos, assim como na produção de substâncias nematicidas (Freitas *et al*., 2009; Hallmann *et al.,* 2004).

Diferentes trabalhos já foram conduzidos com algumas espécies de *Bacillus* visando o controle dos nematoides das galhas. Fernandes et al (2014) ao avaliarem o efeito da microbiolização de sementes de tomateiro com *Bacillus subtilis* no controle de *M. incognita* e *M. javanica,* observaram redução de 62,6% no número de ovos de *M. incognita*. Dinardo-miranda et al. (2022) avaliando o desempenho de *Bacillus subtilis* + B. *licheniformis*, quando aplicado no sulco de plantio, no controle de nematoides e seus efeitos na produtividade da cana-de-açúcar, observaram que o tratamento com as bactérias foi mais efetivo no controle de *M. javanica.*

Essas pesquisas evidenciam o potencial que esse gênero possui no controle de nematoides, contudo, pesquisas envolvendo a avaliação com outras espécies do gênero *Bacillus* são necessárias para averiguar o potencial que essas possuem no manejo desses patógenos. Desse modo, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito nematicida de diferentes espécies de *Bacillus* sobre juvenis de *Meloidogyne sp*.

RECITAL - Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara, v. 6, n. 3, set/dez 2024.
ISSN: 2674-9270. Disponível em: http://recital.almenara.ifnmg.edu.br/index.php/recital

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 *Meloidogyne sp.*

Conforme Ferraz e Brown (2016) nematoides são vermes cilíndricos, possuindo a forma do corpo filiforme, em forma de fio, são animais aquáticos, podendo ser encontrados em diferentes ambientes, desde que tenha a presença de água. Segundo os autores, os nematoides parasitas de plantas são denominados de fitonematoides. Esses patógenos alimentam-se principalmente dos órgãos subterrâneos dos vegetais, como raízes, rizomas, tubérculos, bulbos, entretanto, existem espécies que se alimentam dos órgãos superiores, como folhas, flores, sementes e caule (Naves, 2005).

Dentre os gêneros de importância de fitonematoides no Brasil e mundialmente, o gênero *Meloidogyne* conhecido como nematoide das galhas ganha destaque (Ferraz, 2018). Esse gênero é considerado o mais importante na agricultura mundial, em razão de parasitar numerosas culturas, ocasionando elevadas perdas e comprometendo a qualidade dos produtos agrícolas (Silva; Santos; Silva, 2016). Mais de 100 espécies desse gênero já foram identificadas e descritas (Hunt; Handoo, 2009). Segundo Carneiro et al (2016), no Brasil, mais de 20 espécies estão presentes.

Esse gênero caracteriza-se por ser um endoparasita sedentário, que forma sítio de alimentação nas células da região do cilindro central, denominados cenócitos. As células dessas regiões sofrem modificações por meio de hipertrofia e hiperplasia, tornando-se multinucleadas, e como consequência formam um tecido que será responsável por nutrir o nematoide durante o seu desenvolvimento (Ferraz; Brown, 2016). A região de alimentação é formada por células gigantes e células vizinhas, essas, em ocorrência a sucessivas divisões celulares, resultam na formação da típica deformação das raízes, o sintoma de galha, que são protuberâncias nas raízes (Abad *et al*., 2003; Pinheiro; Carvalho; Vieira, 2010).

O ciclo de desenvolvimento dos nematoide das galhas se inicia na fase de ovo, sendo posteriormente formado o juvenil de primeiro estádio (J1), esse após sofrer ecdise transforma-se em juvenil de segundo estádio (J2) que é a fase infectiva do gênero *Meloidogyne*. Esses eclodem do ovo por força mecânica exercida por seu estilete, e também pela ação das quitinases produzidas, em seguida o J2 que é a fase infectiva desse gênero. O J2 migra para o solo, iniciando a procura de raízes para a sua alimentação, sendo guiado pelos exsudatos radiculares emitidos pelas plantas. Ao encontrar as raízes, geralmente as radicelas, as enzimas degradadoras da parede celular vegetal são produzidas, auxiliando o J2 penetrar nas células da raiz, migrando para o interior atingindo a região parenquimática próxima do sistema vascular, estabelecendo nesse local o sitio de alimentação (Abad *et al.,* 2009; Pinheiro; Pereira, 2013; Ferraz, 2018). Após induzir a formação do sítio de alimentação, o J2 sofre três ecdises, mudando para juvenil de terceiro (J3) e quarto estádio (J4), e em fêmeas maduras, esféricas em formato piriforme que são sedentárias, que produzem centenas de ovos em uma massa gelatinosa externa as raízes (Shivakumara et al., 2019).

RECITAL - Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara, v. 6, n. 3, set/dez 2024.
ISSN: 2674-9270. Disponível em: http://recital.almenara.ifnmg.edu.br/index.php/recital

As plantas parasitadas por espécies de *Meloidogyne* apresentam diferentes sintomas, como a presença de galhas nas raízes, clorose, redução e deformação do sistema radicular, menor eficiência do sistema radicular na absorção de água e nutrientes, assim como na sua translocação para os órgãos superiores, além do menor desenvolvimento e crescimento da parte aérea, a presença de murchas e deficiências nutricionais também são sintomas típicos da ocorrência de *Meloidogyne* (Pinheiro; Pereira, 2013; Gonzaga; Jesus, 2019).

1.2 Controle biológico

O manejo de fitonematoides é difícil de modo geral, em virtude, de que uma vez introduzidos em uma aérea agrícola, sua erradicação torna-se impossível. Diferentes são as estratégias de controle para os nematoides das galhas, contudo, medidas integradas que envolvam o manejo cultural, preventivo, genético, físico, químico e biológico são as principais táticas que envolvem para a melhor eficiência no manejo de fitonematoides (RIBEIRO *et al*., 2019).

Dentre as medidas de manejo, o controle biológico é uma das alternativas em acessão no controle de patógenos, como os fitonematoides. Essa medida está cada vez mais difundida por técnicos e agricultores, visando a obtenção de produtos de melhor qualidade, além da redução dos impactos ao meio ambiente e a saúde humana (Neves; Lopes; Giaretta, 2019). O controle biológico consiste na eliminação de pragas e doenças de forma natural, utilizando organismos vivos denominados Agentes de Controle Biológico, que podem ser fungos, bactérias, insetos ou outros. Os agentes de controle biológico são inofensivos ao meio ambiente, o que tem permitindo a redução da utilização doa agroquímicos na agricultura (Nascimento *et al.* 2022). Diferentes microrganismos são empregados no controle biológico de fitonematoides. Os fungos e as bactérias são um dos principais inimigos naturais dos fitonematoides no solo. Entre as bactérias, um grupo em especial merece evidencia, as rizobactérias, grupo esse constituídos por bactérias do gênero *Pseudomonas, Azospirillum, Azotobacter, Rhizobium* e *Bacillus* (Neves; Lopes; Giaretta, 2019).

1.3 *Bacillus sp.*

As rizobactérias constituem um grupo de bactérias que são encontradas na rizosfera, são endofiticas ou simbióticas e se caracterizam por proporcionar melhoria no crescimento das plantas, sendo denominadas de rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (RPCP). As rizobactérias além de promoverem o crescimento vegetal, atuam na supressão de doenças e no controle de insetos pragas (Silva *et al*., 2022). Entre os gêneros mais empregos em controle biológico, *Bacillus spp*. se destaca, pelo fato de apresentar diferentes mecanismos antagônicos, sendo a antibiose o principal modo de ação antagônica (Rosário *et al*., 2022).

Esse gênero apresenta a capacidade de estimular o crescimento vegetal, por meio da secreção de fitohormônios, como a auxina e citocininas, ou atuando na ativação da produção de compostos orgânicos que atuam na defesa e imunidade das plantas. Além disso, essas bactérias possuem a capacidade de sintetizar antibióticos e outros compostos químicos que apresentam ação na inibição de organismos fitopatogênicos (Contreras *et al*., 2022). No controle dos fitonematoides, sabe-se que algumas espécies de *Bacillus* secretam toxinas que modificam a formação da película externa dos ovos, inibindo a eclosão dos juvenis (Machado, *et al*., 2012).

Ademais, outro ponto que contribuem para a ação nematicida de *Bacillus* é a produção de enzimas, como as quitinases e proteases, que atuam na parede dos ovos e dos juvenis, inibindo a eclosão, e ocasionando mortalidade dos juvenis (Lian *et al.,* 2007; Huang *et al*., 2010).

Alguns trabalhos ressaltam e confirmam o potencial que essas bactérias apresentam no controle de algumas espécies de fitonematoides. Araújo et al (2018) ao avaliarem o efeito da aplicação de *Bacillus subtilis* em mudas de banana, infectadas por população mista de *Radopholu similis, Meloidogyne spp*., *Pratylenchus spp*. e *Helicotylenchus spp*., os autores verificaram que a aplicação reduziu a população de nematoides nas raízes e nos rizomas. Turatto et al (2018) avaliando o potencial de isolados de *Bacillus spp*. e *Pseudomonas fluorescentes* no controle de *M. javanica* e *Ditylenchus spp*., observaram que os isolados reduziram significativamente a eclosão de ovos de *M. javanica* e a motilidade de *Ditylenchus spp*.

Resultados semelhantes foram constatados por Chinheya, Yobo e Laing (2018) ao analisarem o potencial de biocontrole de isolados de *Bacillus* em *M. javanica* na soja. Os autores chegaram à conclusão de que todos os isolados testados apresentaram níveis de mortalidade em torno de 50 a 100%, além do mais, a realização do tratamento de sementes com *Bacillus* proporcionou redução das galhas e das massas de ovos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido nos laboratórios de Microbiologia e Nematologia da Lallemand Plant Care, localizada em Patos de Minas/MG. Os juvenis de segundo estádio de *Meloidogne sp*. foram obtidos a partir de raízes de café com a presença de galhas, para a obtenção dos J2 de *Meloidogne sp*. O delineamento experimental empregado foi o inteiramente casualizado, sendo a testemunha (água destilada), e sete espécies de *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. methylotrophicus*, *B. thurigiensis, B. amyloliquefaciens, B. megaterium, B. cereus* e *B. pumilis*), com cinco repetições.

Os isolados bacterianos utilizados foram fornecidos pelo setor de Otimização de Processos da Lallemand Plant Care. Os isolados foram multiplicados em placas de Petri esterilizadas, contendo meio de cultura Trypic Soy Agar (TSA) e incubadas por 48 horas a 28º C, em câmara de crescimento do tipo B.O.D. (Biochemical Oxygen Demand). Após o crescimento, as colônias de *Bacillus spp*. foram levadas à câmara de fluxo laminar, onde as culturas bacterianas foram ressuspendidas com auxílio de uma alça de vidro estéril, adicionando-se 10 mL de água destilada e Tween (0,02g/ml) previamente esterilizados. Cada suspensão bacteriana obtida foi adicionada, separadamente, em um tubo de Falcon de 25 ml esterilizado. Com o auxílio de um espectrofotômetro, no comprimento de onda de 540 nm realizou o ajuste da concentração de células na suspensão para a densidade ótica OD = 0,5.

O experimento foi conduzido em microtubos tipo eppendorf de 1,5 mL, previamente esterilizados por 20 min a 120ºC. Para a avaliação do efeito nematicida sobre os juvenis, em cada eppendorf foi adicionado 50 µL de água salina (NaCl 1N) esterilizada contendo aproximadamente 30 J2 de *Meloidogyne sp*., separadamente, e 50 µL da suspensão de células bacterianas. Para o controle, foi utilizado água destilada esterilizada. Todos os microtubos foram vedados com papel alumínio e incubados em B.O.D a ± 27°C e 12 horas de luz. Após 24

RECITAL - Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara, v. 6, n. 3, set/dez 2024.
ISSN: 2674-9270. Disponível em: http://recital.almenara.ifnmg.edu.br/index.php/recital

horas da aplicação dos tratamentos, a suspensão contida em cada tubo foi transferida, separadamente, para lâminas côncovas, adicionando-se 10 µL de NaOH.Os J2 foram observados durante um período de até 1 minuto após a adição do NaOH. Os J2 que não reagiram à solução de NaOH, permanecendo completamente estendidos, foram considerados mortos, de acordo com o método descrito por Chen e Dickson (Chen; Dickson, 2000), que foi adaptado por Amaral *et al*. (2003).Os dados obtidos foram convertidos em percentagens.

Os resultados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk (Shapiro; Wilk, 1965) e de homocedasticidade de Bartlett (1937). Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) por meio do teste F ($P \leq 0,05$). As médias foram comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0.05$) (1974), utilizando o programa estatístico SISVAR (Ferreira, 2019).

3 RESULTADOS

Os dados apresentaram normalidade (P = 0,6585) e homogeneidade de variância (P = 0,067826). Conforme a analise de variância (ANOVA) houve diferença estatística (P = 0,0076) entre os tratamentos, conforme a tabela 1.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância (teste F), para a variável Percentagem de mortalidade (PM) sobre juvenis de segundo estádio de *Meloidogyne* sp. a diferentes espécies de *Bacillus*.

F. V.	GL	PM	Fc
Tratamento	7	3,423	0,0076*
Erro	32	-	-
Total corrigido	39	-	-
CV (%)	-	32,75	

Fonte: Autoria própria, 2024.
F.V. – Fontes de variação; GL - Grau de liberdade; CV - Coeficiente de variação; *Significativo a 5% (teste F).

Para a variável mortalidade houve efeito significativo dos tratamentos analisados (Tabela 2). Dentre as sete espécies de *Bacillus* avaliadas, *B. subtilis* e *B.methylotrophicus* foram os tratamentos mais eficientes na mortalidade de J2 de *Meloidogyne* sp. não diferindo estatisticamente entre si, porém diferiram dos demais tratamentos.

RECITAL - Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara, v. 6, n. 3, set/dez 2024.
ISSN: 2674-9270. Disponível em: http://recital.almenara.ifnmg.edu.br/index.php/recital

Tabela 2 - Percentagem de mortalidade de J2 de *Meloidogyne* sp. a diferentes espécies de *Bacillus.*

Espécies de *Bacillus*	PM (%)
B. subtillis	64,00 a
B. methylotrophicus	58,00 a
B. thurigiensis	41,33 b
B. amyloliquefaciens	43,33 b
B. megaterium	44,67 b
B. cereus	33,33 b
B. pumilis	27,33 b
Testemunha	41,33 b

Fonte: Autoria própria, 2024.
Médias seguidas de letras iguais, não diferem entre si (teste de Scott-Knott 5%).

Os resultados deste trabalho corroboram os de Alves *et al*. (2011), que relataram maior mortalidade de J2 de *M. javanica* com *B. subtilis* em testes *in vitro*. *Bacillus subtilis* tem como característica a produção de endotoxinas, compostos bioativos e metabólitos secundários que interferem no ciclo reprodutivo dos fitonematoides, principalmente na reprodução e na eclosão dos juvenis (Sharma; Gomes, 1996; Mendoza *et al*., 2008). Além disso, estudos apontam que essa rizobactéria induz a degradação de exsudatos radiculares, interferindo na orientação dos fitonematoides, o que culmina no não reconhecimento dos estímulos emitidos pelas raízes, e consequentemente, diminui a migração dos fitonematoides em direção às raízes (Araújo *et al*., 2002; Araújo; Marchesi, 2009). Outro ponto que contribui para a eficiência dessa espécie sobre os fitonematoides é a produção de enzimas, como as proteases.

As proteases caracterizam-se pela sua capacidade de catalisarem a hidrólise de proteínas, liberando uma mistura de aminoácidos, que atuam na barreira semipermeável da cutícula do nematoide. Essa enzima consegue agir nas paredes dos ovos ou atrasar a eclosão de juvenis de fitonematoides, permitindo a penetração da bactéria pela cutícula dos fitonematoides, podendo degradar a mesma (Lian *et al*., 2007; Huang *et al*., 2010). Desse modo, a produção de proteases pode estar relacionada ao efeito nematicida obtido, especialmente por *B. subtilis*. Araújo, Silva e Araújo (2002), ressaltam que isolados de *B. subtilis* produzem metabólitos tóxicos que prejudicam o desenvolvimento do nematoide do cisto da soja (*Heterodera glycines*) e também inibem a eclosão de juvenis.

A utilização de testes *in vitro* é uma das etapas iniciais que visam a seleção de espécies de bactérias ou fungos que apresentam potencial no controle de fitopatógenos. Barra et al. (2008) evidencia que testes *in vitro* são importantes para selecionar candidatos mais promissores, sendo assim, permitindo a redução do número de candidatos e a seleção dos organismos mais promissores para controle biológico de fitonematoides. Entretanto, em algumas situações, os resultados que são obtidos em testes *in vitro*, nem sempre se confirmam em condições naturais a campo ou em casa de vegetação. Isso pode estar relacionado ao fato da ação de fatores externos, como temperatura, umidade e as próprias condições microbiológicas do solo pode resultar em efeitos inesperados (Calsin, 2021).

Alguns trabalhos confirmam a ação de *B. subtilis* no manejo de *Meloidogyne* em condições externas. Domingues et al (2022) ao avaliarem o potencial nematicida de agentes biológicos em infestação de *Meloidogyne* para duas cultivares de alface crespa, constaram que *B. subtillis* demostrou resultados promissores no controle de *M. javanica*, *M. incognita* e *M. enterolobii* para ambas cultivares testadas. No trabalho desenvolvido por Mazzuchelli, Mazzuchelli e Araújo (2020) em cana-de-açúcar, os autores verificaram que a utilização de *B. subtillis* permitiu melhor controle efetivo dos nematoide das galhas na produção da cana, em solo naturalmente infestado.

Assim como *B. subtilis*, *B. methylotrophicus* conferiu índices consideráveis, já que a percentagem de mortalidade de J2 foi superior a 50%. Esse dado apenas ratifica o potencial nematicida que essa espécie possui. Alcebíades et al. (2019) ao avaliarem o melhor método empregado no manejo de *M. javanica.* Conforme os autores, o tratamento com *B. methylotrophicus* proporcionou redução do número de ovos, além de reduzir o índice populacional. De acordo com Araújo et al. (2023) a associação de *B. methylotrophicus* e *B. subtilis* com plantas de cobertura conferiram efeito adicional na redução da população de *P. brachyurus*. Além disso, os autores verificaram que a associação de *Crotalaria spectabilis* com *B. methylotrophicus* proporcionou efeitos satisfatórios no controle de *M. incognita*.

B. pumilis foi o menos eficaz na percentagem da mortalidade dos juvenis de *Meloidogyne sp*. seguida por *B. cereus*. Esse resultado está em concordância com os observados por Alves et al. (2011). Os autores verificaram em teste *in vitro* que *B. cereus* proporcionou as menores percentagens de juvenis mortos de *M. javanica*. No entanto, esses resultados distinguem dos obtidos por Ribeiro et al. (2012), que observaram que isolados de B. pumilis proporcionaram redução do número de juvenis e do número de galhas. Semelhantemente, Pinho et al. (2009) ao avaliarem o efeito de rizobactérias endofíiticas na reprodução de *M. incognita*, *B. pumilis* esteve entre as espécies que apresentaram o melhor controle sobre o nematoide das galhas.

O baixo percentual de mortalidade obtido por *B. pumilis* e *B. cereus*, assim como resultados inferiores a 50% obtidos por *B. thurigiensis, B. amyloliquefaciens* e *B. megaterium* podem estar relacionados a especificidade das rizobactérias em relação aos fitonematoides. Esse fator foi observado por Alves et al. (2011), que verificaram que algumas espécies de rizobactérias foram mais eficientes para o controle de *M. javanica*, porém, não foram os mesmos para *M. incognita*. Nesse sentido, no presente trabalho, o fator especificidade pode ter colaborado para os resultados obtidos, porém, como o nível conhecido dos juvenis testado foi apenas a gênero, não se pode confirmar essa hipótese.

Nesse aspecto, torna-se necessário mais trabalhos que visam avaliar a ação de espécies de *Bacillus* a diferentes espécies de nematoides das galhas, assim como para outras espécies de fitonematoides em condições *in vitro* e em in vivo. Isso permitirá conhecer o comportamento das espécies bacterianas no controle dos fitonematoides parasitas, assim como selecionar os melhores organismos com potencial para a produção de bionematicidas.

CONCLUSÃO

Entre as diferentes espécies do gênero *Bacillus* avaliadas, *B. subtilis* e *B. methylotrophicus* apresentam potencial para manejo biológico de *Meloidogyne sp.*

RECITAL - Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara, v. 6, n. 3, set/dez 2024.
ISSN: 2674-9270. Disponível em: http://recital.almenara.ifnmg.edu.br/index.php/recital

REFERÊNCIAS

ABAD, P.; CASTAGNONE-SERENO, P.; ENGLER, J. A.; FAVERY, B. Invasion, feeding and development. In: PERRY, R.; MOENS, M.; STARR, J. L. (eds). **Root-knot Nematodes**. Cambridge, MA, USA, CABI International, p. 163-181. 2009.

ALCEBÍADES, M. L.; GALDINO, L. G.; CNOSSEN, E. J. N.; SODRÉ FILHO, J.; ALVES, G. C. S. Utilização de método químico e biológico no manejo de *Meloidogyne javanica* na cultura de soja sob cultivo protegido. **Enciclopédia biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, 2019, v.16 n.30, p.630-639.

ALVES, G. C. S.; SANTOS, J. M.; SOARES, P. L. M.; JESUS, F. G.; ALMEIDA, E. J.; THULER, R. T. Avaliação in vitro do efeito de rizobactérias sobre *Meloidogyne incognita, M. javanica* e *Pratylenchus zeae.* **Arquivos do Instituto. Biologico.**, São Paulo, v.78, n.4, p.557-564, out. /dez., 2011

ARAÚJO, F. F.; MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, v. 39, p. 1558-1561, 2009.

ARAÚJO, F. F.; SILVA, J. F V.; ARAÚJO, A. S. F. Influence of *Bacillus subtilis* on the *Heterodera glycines* eclosion, orientation and infection in soybean. **Ciência Rural**, v. 32, n. 2, 2002.

ARAÚJO, F. G.; TEIXEIRA, S. J. C.; SOUZA, J. C.; ARIEIRA, C. R. D. Cover crops and biocontrol agents in the management of nematodes in soybean crop. **Revista. Caatinga**, Mossoró, v. 36, n. 2, p. 243 – 250, abr. – jun., 2023.

ARAÚJO, J. J. S.; MUNIZ, M. F. S.; FILHO, G. M.; ROCHA, F. S.; CASTRO, J. M. C. *Bacillus subtilis* no tratamento de mudas de bananeira infectadas por fitonematoides. **Revista Ceres**, 65 (01), Jan-Feb., 2018.

BARTLETT, M. S. Properties of sufficiency and statistical tests. Proceedings of the Royal Society of London. **Series A-Mathematical and Physical Sciences**, v. 160, n. 901, p. 268-282, 1937.

BARRA, V. R.; SILVA, R.; FERRAZ, H. G. M.; MACAGNAN, D.; SILVA, H. S. A; MOURA, A. B.; HALFED-VIEIRA, B. A.; MENDONÇA, L.; VIEIRA JÚNIOR, J. R.Potencialidade antagonística detectada em alguns procariotas agentes de biocontrole de enfermidades de Plantas. **Summa Phytopathologica**, 2008, v.34, 2, p.121-126.

BETTIOL, W.; MAFFIA, L. A.; CASTRO, M. L. M. P. Control biológico de enfermedades de plantas en Brasil. *In*: BETTIOL, W.; RIVERA, M. C.; MONDINO, P.; MONTEALEGRE, A.; JAIME, R.; COLMENÁREZ, Y. C. **Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe**, p.404, 2014.

CALSIN, C. P. M. **Potencial de bactérias na promoção de crescimento e biocontrole de fitonematoides em cana-de-açúcar**. 2021. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, p.85, 2021.

CARNEIRO, R. M. D. G. *et al*. Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTROS, L. H. S. **Diagnose de fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016. Cap. 3, p.47-64.

CHEN, S. Y.; DICKSON, D. W. A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology**, v.32, p.117-121, 2000.

CONTRERAS, D. J.; GALARZO, M. L. A.; GUZMAN, M. E. R.; INIGUEZ, J. C.; VÁZQUEZ, M. V. H. Qualidade de hastes florais de lisianthus (*Eustoma grandiflorum* Raf.) inoculadas com *Bacillus subtilis* e *Glomus intraradices.* **Scientific Article Ornam. Hortic.** v**.**28 (4), Oct-Dec, 2022.

DINARDO-MIRANDA, L. L.; MIRANDA, I. D.; SILVA, H. D. S.; FRACASSO, J. V. Biological control of phytoparasitic nematodes in sugarcane fields. **Pesquisa. Agropecuária**. Trop., Goiânia, v. 52, e73758, 2022.

DOMINGUES, S. C. O.; CARVALHO, M. A. C.; RABELO, H. O.; DAVID, G. Q.; FURINI, T.; BARRADAS, A. C.; MARIMON JÚNIOR, B. H. Ação de agentes biológicos no controle de fitonematoides em alface. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**. v.10 n.2, 2022, p.157-166.

FERNANDES, R., H.; VIEIRA, B. S.; FUGA, C. A. G.; LOPES, E. A. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. **Revista de biociências,** Uberlândia, v. 30, n. 1, p. 194-200, Jan./Feb. 2014.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. **Nematologia de plantas: Fundamentos e importância.** Campos dos Goytacazes: Sociedade Brasileira de Nematologia, 2016, p.250.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematoides. In: AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. **Manual de fitopatologia**, volume 1, princípios e conceitos. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, 5 ed. p.528, 2018.

FERREIRA, D. F. SISVAR: A computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Revista Brasileira de Biometria,** [S.l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, dec. 2019.

FERREIRA, R. J. **Espécies de *Bacillus* no controle de *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica in vitro* e na cana-de-açúcar**. 2015. Dissertação (Mestrado em Agronomia – Produção vegetal). Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, SP, 2015.

FREITAS, L. G. *et al*. Controle biológico de nematoides: estudos de casos. *In*: ZAMBOLIM, L.; PICANÇO, M. C. **Controle biológico**: Pragas e doenças – Exemplos práticos. Viçosa, MG: UFV, 2009, cap.3, p.41-82.

GODOY, C. V.; ALMEIDA, A. M. R.; COSTAMILAN, L. M.; MEYER, M. C.; DIAS, W. P.; SEIXAS, C. D. S.; SOARES, R. M.; HENNING, A. A.; YORINORI, J. T.; FERREIRA, L.P.; SILVA, J. F. V. Doenças da soja. *In:* AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. **Manual de fitopatologia** volume 2: Doenças das plantas cultivadas. 5 ed. Ouro Fino, MG: Agronômica Ceres, 2016, p.810.

GONZAGA, V.; JESUS, A. M. JESUS, A. M.; DIAS, M. S. C. Nematoides fitoparasitas. *In:* JESUS, A. M.; DIAS, M. S. C. Nematoides fitoparasitas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, MG. v.40, n.306, p.1-108, 2019.

HALLMANN, J.; FAUPEL, A.; KRECHEL, A.; SIKORA, R.; BERG, G. Endophytic bacteria and biological control of nematodes. **IOBC/WPRS Bulletin**, v.27, p.83-

95. 2004.

HUANG, Y.; XU, C.; MA, L.; ZHANG, K.; DUAN, C.; MO, M. Characterisation of volatiles produced from *Bacillus megaterium* YFM3.25 and their nematicidal activity against *Meloidogyne incognita*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 126, p. 417-422. 2010.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. *In*: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. **Root-knot nematodes**. Wallingford: CABI, 2009, p.55-97.

HUSSAIN, M.; ZOUHAR, M.; RYŠÁNEK, P. Effects of nematophagous fungi on viability of eggs and juveniles of *Meloidogyne incognita*. **The Journal of Animal & Plant Sciences**, v. 27, p.252-258, 2017.

LIAN L. H.; TIAN, B. Y.; XIONG, M. Z.; ZHU, M. Z. XU, J.; ZHANG,K. Q. Proteases from *Bacillus*: A new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v.45, n. 3, p. 262-269, 2007.

MACHADO, A. P.; COSTA, J. N. Biocontrole do fitonematoide *Pratylenchus brachyurus in vitro* e na soja em casa de vegetação por *Bacillus subtilis.* **Revista Biociências**, Taubaté, v. 23, n. 1, p. 83-94, 2017.

MACHADO, V.; BERLITZ, D. L.; MATSUMURA, A. T. S.; SANTIN, R. C. M.; GUIMARÃES, A.; SILVA, M. E.; FIUZA, L. M. Bactérias como agentes de controle biológico de fitonematóides. **Oecologia Australis**, 16 (2): 2012, p.165-182.

MAZZUCHELLI, R. C. L.; MAZZUCHELLI, E. H. L.; ARAUJO, F. F. Efficiency of *Bacillus subtilis* for root-knot and lesion nematodes management in sugarcane. **Biological Control**, v. 143, 2020.

MENDOZA, A. R; KIEWNICK, S.; SIKORA, R. In vitro activity of *Bacillus firmus* against the burrowing nematode *Radopholus similis*, the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. **Biocontrol Science and Technology**, 2008, 18, 377– 389.

MHATRE, P. H.; KARTHIK, C.; KADIRVELU, K.; DIVYA, K. L.; VENKATASALAM, E. P.; SAKTHIVEL, S.; RAMKUMAR, G.; SARANYA, C.; SHANMUGANATHAN, R. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A potential alternative tool for nematodes bio-control. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. v.17, n.119–128. 2019. Disponível em:< https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878818118306546.> Acesso em 05 de março de 2023.

MIRANSARI, M. Plant Growth Promoting Rhizobacteria. **Journal of Plant Nutrition**. v.37, n.14, p.2227-2235, 2014.

MORILLO, S. R. C.; SILVA, G. S. Efeito antagônico de feijão-de-porco sobre *Meloidogyne enterolobii* em tomateiro. **Summa Phytopathologica**, v. 41, n. 4, p. 305 - 310, 2015.

NAVES, R. L. **Diagnose e manejo de doenças causadas por fitonematoides na cultura da videira**. Embrapa, circular técnico, Bento Gonçalves, RS, 2005.

NASCIMENTO, V. C.; SANTOS, K. C. R.; ALENCAR, K. L. C.; CASTRO, M. B.; KRUGER, R. H.; LOPES, F. A. C. *Trichoderma*: biological control efficiency and perspectives for the Brazilian Midwest states and Tocantins. **Brazilian Journal of Biology**, vol. 82, 2022.

NEVES, W. S.; LOPES, E. A.; GIARETTA, R. D. Controle biológico de nematoides parasitas de plantas. *In*: JESUS, A. M.; DIAS, M. S. C. Nematoides fitoparasitas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, MG. v.40, n.306, p.1-108, 2019.

OLIVEIRA, C. M. G.; ROSA, J. M. O.; GIORIA, R.; BRAGA, K. R. B. Nematoides. In: BRANDÃO FILHO, J. U. T.; FREITAS, P. S. L.; BERIAN, L. O. S.; GOTO, R.; **Comps. Hortaliças-fruto** [online]. Maringá: EDUEM, 2018, p. 315-338.

OOSTENDORP, M.; SIKORA, R. A. In-vitro interrelationships between rhiosphere bactéria and Heterodera schachtii. **Review Nematology**, v. 13, n. 3, p.269-274, 1990.p.553, 1981.

PINHEIRO, J. B.; CARVALHO, A. D. F.; VIEIRA, J. V. **Manejo do nematoide-das-galhas (*Meloidogyne spp.)* em cultivos de cenoura na região de Irecê-BA.** Comunicado Técnico 77 - EMBRAPA 1:7., 2010.

PINHEIRO, J. B.; PEREIRA, R. B. **Nematoide-das-galhas: importante patógeno para a cultura do tomateiro**. Nosso alho, p.35-41, 2013.

PINHEIRO, J. B.; PEREIRA, R. B.; SUINAGO, F. A. **Manejo de nematoides na cultura do tomate.** Embrapa, Brasília, DF. Circular técnico, 2014.

PINHO, R. S. C.; CAMPOS, V. P.; SOUZA, R. M.; SILVA, J. R. C.; OLIVEIRA, M. S.; PIMENTELL, G. C. S.; COSTA, L. S. A. S. Efeito de Bactérias endofíticas no controle de *Meloidogyne incognita* e sua capacidade de colonização de raízes de tomateiro. **Nematologia Brasileira**, Piracicaba, v.33, n.1, p.54-60, 2009.

RIBEIRO, R. C. F.; DIAS-ARIEIRA, C. R.; MACHADO, A. C. Z.; DIAS, M. S. C.; JESUS, A. M. Manejo de fitonematoides. *In*: JESUS, A. M.; DIAS, M. S. C. Nematoides fitoparasitas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, MG. v.40, n.306, p.1-108, 2019.

RIBEIRO, R. C. F; CAMPOS, V. P; XAVIER, A. A; ROCHA, L. S; RIBEIRO, H. B; AGUIAR, F. M; SOUZA, R. M; MIZOBUTSI, E. H; DIAS-ARIEIRA, C. R. Rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica* e mal do Panamá em bananeira. **Nematropica** 42: 218-226, 2012.

ROSÁRIO, W. C.; RODRIGUES, A. A. C.; OLIVEIRA, A. C. S.; MAIA, C. B.; MARQUES, B. R. Fisiologia, sanidade e controle de fitopatógenos em sementes florestais da Reserva Extrativista Quilombo do Frechal em Mirinzal – MA. **Ciência Florestal,** v.32 (2), Apr-Jun 2022.

SCOTT, R. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping mans in the analysis of variance. **Biometrics**, vol.30, 1974, p. 507-512.

SHAPIRO, S. S.; WILK, M. B. An analysis of variance test for normality (complete samples). **Biometrika**, v. 52, n. 3/4, p. 591-611, 1965.

SHARMA, R. D.; GOMES, A. C. Controle biológico de *Meloidogyne arenaria* com *Pausteria penetrans*. **Nematologia Brasileira**, v.23, 1996, 47-52.

SHIVAKUMARA, T. N.; SOMVANSHI, S. V.; PHANI, V.; CHAUDHARY, S.; HADA, A.; BUDHWAR, R.; SHUKLAB, R. N.; RAO, U. *Meloidogyne incognita* (Nematoda: Meloidogynidae) sterol-binding protein Mi-SBP-1 as a target for its management. **International Journal for Parasitology**, v. 49, n. 13–14, p. 1061-1073, dec. 2019.

SILVA, M. C. L.; SANTOS, C. D. G.; SILVA, G. S. Espécies de *Meloidogyne* associadas a vegetais em microrregiões do estado do Ceará. **Revista Ciência da Agronomia,**. v.47 (4), 2016.

SILVA, M. A.; NASCENTE, A. S.; REZENDE, C. S.; FRASCA, L. L. M.; FILIPPI, M. C. C.; LANNA, A. C.; FERREIRA, E. P. B.; CRUZ, D. R. C.; LACERDA, M. C.; FERREIRA, E. A. S. Rizobactérias multifuncionais: utilização na agricultura. **Research, Society and Development,** v. 11, n. 4, 2022.

SIKORA, R. A.; MOLENDIJK, L. P. G.; DESAEGER, J. Integrated nematode management and crop health: future challenges and opportunities. In: SIKORA, R. A.; DESAEGER, J.; MOLENDIJK, L. P. G. Integrated Nematode Management: State-of-the-art and visions for the future. **CAB International**, Wallingford, 3-10. 2022.

TEJO, D. P.; FERNANDESA, C. H. S.; BURATTOB, J. S. Fitonematoides e Estratégias Adotadas em seu Controle. **Ensaios**, v. 24, n. 2, p. 126-130, 2020.

TRUDGILL, D. L.; BLOCK, V. C. Apomictic, polyphagous root- knoot nematodes:exceptionally successfull and damaging biotrophic root pathogens. **Annual Review of Phytopathology**, 39: 53-77, 2001.

TURATTO, M. F.; DOURADO, F. S.; ZILLI, J. E.; BOTELHO, G. R. Control potential of *Meloidogyne javanica* and *Ditylenchus spp*. using fluorescent *Pseudomonas* and *Bacillus spp.* Research Paper, **Brazilian Journal of Microbiology**. v.49 (1), Jan-Mar 2018.

XIANG, N.; LAWRENCE, K. S.; DONALD, P. A.; Biological control potential of plant growth-promoting rhizobacteria suppression of *Meloidogyne incognita* on cotton and *Heterodera glycines* on soybean: **A review. Journal of Phytopathology**, v.166, p.449–458. 2018.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Lallemand Plant Care por ter concedido os espaços laboratoriais e materiais necessários para a execução desse experimento.

Recebido em: *29 de junho 2023.*

Aceito em: *11 de outubro 2024.*