

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese/dissertação será disponibilizado somente a partir de 24/02/2024

At the author's request, the full text of this thesis/dissertation will not be available online until February 24, 2024

DEUCLEITON JARDIM AMORIM

**PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS NO CONTROLE BIOLÓGICO DE NEMATOIDE-
DAS-GALHAS (*Meloidogyne incognita*) E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO
VEGETAL**

Botucatu

2022

DEUCLEITON JARDIM AMORIM

**PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS NO CONTROLE BIOLÓGICO DE NEMATOIDE-
DAS-GALHAS (*Meloidogyne incognita*) E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO
VEGETAL**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Agrônômicas da Unesp Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Agronomia (Proteção de Plantas).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Silvia Renata Siciliano Wilcken

Coorientadores: Dr. Luís Garrigós Leite

Dr^a. Adriana Aparecida Gabia

Botucatu

2022

A524p

Amorim, Deucleiton Jardim

Prospecção de bactérias no controle biológico de nematoide-das-galhas (*Meloidogyne incognita*) e promoção de crescimento vegetal / Deucleiton Jardim Amorim. -- Botucatu, 2022

61 p. : tabs., fotos

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu

Orientadora: Silvia Renata Siciliano Wilcken

1. Bacillus. 2. Controle biológico. 3. *Meloidogyne*. 4. *Pseudomonas*. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrônômicas, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: PROSPECÇÃO DE BACTÉRIAS NO CONTROLE BIOLÓGICO DE NEMATOIDE-DAS-GALHAS (*MELOIDOGYNE INCOGNITA*) E PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO VEGETAL

AUTOR: DEUCLEITON JARDIM AMORIM

ORIENTADORA: SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN

COORIENTADORA: ADRIANA APARECIDA GABIA

COORIENTADOR: LUÍS GARRIGÓS LEITE

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em AGRONOMIA (PROTEÇÃO DE PLANTAS), pela Comissão Examinadora:

Prof.^a Dr.^a SILVIA RENATA SICILIANO WILCKEN (Participação Virtual)
Protecao Vegetal / Faculdade de Ciencias Agronomicas de Botucatu UNESP



Prof. Dr. CARLOS GILBERTO RAETANO (Participação Virtual)
Protecao Vegetal / Faculdade de Ciencias Agronomicas de Botucatu UNESP



Dr. FERNANDO BERTON BALDO (Participação Virtual)
Laboratório de Controle Biológico / Instituto Biológico



Botucatu, 24 de fevereiro de 2022

*À minha família, por ser como è:
minha mãe Maria L. J. Amorim;
meu pai João dos S. Amorim;
e meus irmãos.*

dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus em primeiro lugar. Graças a Ele tive condições de conduzir este estudo.

Aos meus queridos pais (Maria Lima Jardim Amorim e João dos Santos Amorim) e irmãos (Deoclecio, Deuciane, Marilane, Marisa, Antônio José e Maria Regina), pelo apoio incondicional.

À Profa. Dra. Silvia Renata S. Wilcken, pela orientação, ensinamentos e paciência.

À Dra. Adriana A. Gabia, pela coorientação, ensinamentos e paciência.

Ao Dr. Luís G. Leite, pela coorientação, ensinamentos e discussões valiosas.

Ao Dr. Fernando B. Baldo, pela dedicação e ensinamentos repassados durante a condução deste projeto.

Ao meu amigo e parceiro nesta pesquisa, Thiago Fornazari Tsujimoto. Agradeço por toda paciência, risadas, discussões, esforço e muitas outras qualidades que foram importantes durante a pesquisa.

Aos colegas do Laboratório de Nematologia Agrícola – FCA.

Aos colegas do Laboratório de Controle Biológico do Centro Avançado em Proteção de Plantas e Saúde Animal – CAPSA (Instituto Biológico/Campinas).

Àqueles que contribuíram diretamente ou indiretamente com esta pesquisa.

Aos professores e técnicos do Departamento de Proteção de Plantas/FCA.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 88887.495587/2020-00.

RESUMO

Os nematoides-das-galhas, gênero *Meloidogyne*, causam prejuízos à agricultura, com perdas estimadas em mais de 100 bilhões de dólares em todo mundo. O manejo desses nematoides é um complicador para muitas culturas agrícolas. Assim, ao longo do tempo, muitos mecanismos foram adotados, a fim de minimizar os danos desses fitopatógenos, entre eles o controle biológico, além de outros. O objetivo deste trabalho foi selecionar bactérias, para possível controle biológico de *Meloidogyne incognita* e promoção de crescimento vegetal. Plantas de tomateiro Santa Cruz 'Kada Gigante' foram inoculadas com esse nematoide a partir de uma população pura. Após 60 dias, raízes dessas plantas foram processadas para obtenção de juvenis de segundo estágio (J_{2s}). Cento e um isolados bacterianos foram inoculados em meio NB (Nutrient Broth), incubados a 180 rpm por 72 h, até chegarem, aproximadamente, 10^8 unidades formadoras de colônias (UFC). Os testes *in vitro* foram realizados em três etapas, a primeira para seleção de isolados com mortalidade igual ou a 50%. Na segunda etapa foi utilizado nove isolados com de 10% de concentração da suspensão bacteriana, com avaliações às 24, 48 e 72 h, após a inoculação), inoculando $100 J_2 \text{ mL}^{-1}$. Cinco isolados foram selecionados para uma terceira etapa, com sete concentrações (0; 2; 4; 7; 10; 15; 20%), adicionando-as em tubos de ensaio e depois, uma suspensão de $500 J_2 \text{ mL}^{-1}$, após homogeneização, foram inoculados em placas de Petri de 6 mm de diâmetro sobre 12 g de areia sílica esterilizada, com avaliação realizada às 92 h, após a inoculação. Todas as triagens seguiram um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições em duplicata, tendo como testemunhas, água destilada e meio NB. As etapas *in vivo* foram divididas em duas, a primeira para avaliação do controle do nematoide, após 60 dias da inoculação de $1.000 J_2 \text{ mL}^{-1}$. Os tratamentos foram compostos de 5 e 15% da concentração da suspensão bacteriana dos seguintes isolados: 195b, MA07, 287a, 321b e 311a, tendo como testemunha água e meio NB. O segundo experimento foi composto pelos mesmos tratamentos, nas mesmas concentrações, para avaliação de promoção de crescimento vegetal, sem nematoides. As avaliações ocorreram após 60 dias da inoculação, sendo as variáveis: nematoides por grama de raiz, altura da parte aérea, massa fresca e massa seca da parte aérea, crescimento, massa fresca e massa seca da raiz, aferidas. Os experimentos foram repetidos duas vezes, com quatro repetições cada tratamento. O "screening" de toda a diversidade de bactérias finalizou com 14%

do total com mortalidade igual ou a 50% (20 isolados). Na segunda etapa cinco isolados foram eficientes, em uma concentração de 10% da suspensão bacteriana. Esses resultaram com mortalidade acima de 80%, já na terceira etapa, os cinco isolados nas diferentes concentrações atingiram mortalidade próxima de 100%. O isolado 287a foi o mais promissor no experimento de controle do nematoide, este demonstrou ser um agente bacteriano potencial, para o controle de juvenis, tendo uma baixa concentração de ovos + J₂, quando comparado com as testemunhas não tratadas com bactérias. Os isolados testados promoveram crescimento vegetal, pois as plantas inoculadas com bactérias cresceram mais que àquelas não tratadas. Esses resultados são promissores, pois indicam que foi possível selecionar isolados potenciais para o controle biológico de *Meloidogyne incognita* sob triagens *in vitro* e *in vivo*. Outros estudos em condições de campo necessitam ser realizados.

Palavras-Chave: *Bacillus*; controle biológico; *Meloidogyne*; *Pseudomonas*.

ABSTRACT

Root-knot nematodes, *Meloidogyne*, cause damage to agriculture, with losses estimated at more than 100 billion dollars worldwide. The management of this nematode is a complicating factor for many agricultural crops. Thus, over time, many mechanisms were adopted in order to minimize the damage of these phytopathogens, including biological control, among others. The objective of this research is to select bacteria for possible biological control of *Meloidogyne incognita* and plant growth promoting. Tomato plants Santa Cruz 'Kada Gigante' were inoculated with this nematode from a pure population and after 60 days, roots of these plants were processed to obtain second-stage juveniles (J_{2s}). Hundred one bacterial isolates were inoculated in NB medium (Nutrient Broth), incubated at 180 rpm for 72 h, with approximately 10⁸ colony-forming units (CFU). *In vitro* tests were performed in three stages, the first for selecting isolates with mortality equal to or 50%. In the second stage, nine isolates with 10% concentration of bacterial suspension were used, with evaluations at 24, 48 and 72 h after inoculation), inoculating 100 J₂ mL⁻¹. Five isolates were selected for a third stage, with seven concentrations (0; 2; 4; 7; 10; 15; 20%, evaluated at 92 h after inoculation), inoculating 500 J₂ mL⁻¹ in Petri dishes 6 mm in diameter on 12 g of sterile silica sand. All "screenings" followed a completely randomized experimental design, with four replicates in duplicate, with distilled water and NB medium as controls. The *in vivo* steps were divided into two, the first for evaluating the control of the nematode, 60 days after inoculation of 1,000 J₂ mL⁻¹. The treatments were composed of 5 and 15% of the bacterial suspension concentration of the following isolates: 195b, MA07, 287a, 321b and 311a, with water and NB medium as a control. The second experiment consisted of the same treatments, at the same concentrations, to evaluate plant growth promotion without nematodes. The evaluations took place 60 days after inoculation, and the variables were: nematodes per gram of root, height of shoot, fresh mass and dry mass of shoot, growth, fresh mass and dry mass of the root, measured. The experiments were repeated twice, with four repetitions each treatment. The "screening" of all bacterial diversity ended with 14% of the total with mortality equal to or 50% (20 isolates). In the second step, five isolates were efficient, at a concentration of 10% of the bacterial suspension. These resulted with mortality above 80%, in the third stage, the five isolates at different concentrations reached mortality close to 100%. Isolate 287a was the most promising

in the nematode control experiment, it proved to be a potential bacterial agent for the control of juveniles, having a low concentration of eggs + J₂ when compared to controls not treated with bacteria. The tested isolates promoted plant growth, as plants inoculated with bacteria grew more than untreated controls. These results are promising, as they indicate that it was possible to select potential isolates for the biological control of *Meloidogyne incognita* under *in vitro* and *in vivo* "screenings". Biochemical tests, metabolite stability, molecular identification and experiments under field conditions with other agricultural crops need to be carried out.

Keywords: *Bacillus*; biological control; *Meloidogyne*; *Pseudomonas*.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Gênero <i>Meloidogyne</i> Göldi, 1887	17
2.2	Bactérias no controle biológico de nematoides	18
2.3	Gênero <i>Bacillus</i> Cohn, 1872	19
2.4	Gênero <i>Pseudomonas</i> Migula, 1894	22
3	MATERIAL E MÉTODOS	25
3.1	Localização dos experimentos	25
3.2	Preparo de substrato e inóculo de <i>Meloidogyne incognita</i>	25
3.3	Obtenção dos juvenis	25
3.4	Obtenção dos isolados bacterianos	26
3.5	Etapa I – “Screening” <i>in vitro</i>	26
3.6	Etapa II – Mortalidade de <i>Meloidogyne incognita</i> x tempo	27
3.7	Etapa III – Concentrações letais	27
3.8	Etapa IV – experimentos <i>in vivo</i>	28
3.8.1	Controle <i>in vivo</i> de <i>Meloidogyne incognita</i>	28
3.8.2	Promoção de crescimento vegetal	28
3.9	Avaliações nematológicas e vegetativas	29
3.10	Análise estatística	30
4	RESULTADOS	32
4.1	Etapa I – “Screening” <i>in vitro</i>	32
4.2	Etapa II – Mortalidade de <i>Meloidogyne incognita</i> x tempo	33
4.3	Etapa III – Concentrações x mortalidade de <i>Meloidogyne incognita</i>	35
4.4	Etapa IV – Experimentos <i>in vivo</i>	37
4.4.1	Controle <i>in vivo</i> de <i>Meloidogyne incognita</i>	37
4.4.2	Promoção de crescimento	41
5	DISCUSSÃO	44
5.1	Etapa I – “Screening” <i>in vitro</i>	44
5.2	Etapa II – Mortalidade de <i>Meloidogyne incognita</i> x tempo	45
5.3	Etapa III – Concentrações x mortalidade de <i>Meloidogyne incognita</i>	46

5.4 Etapa IV – Controle de <i>Meloidogyne incognita</i> x promoção de crescimento.....	47
6 CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS	51
APÊNDICE A – EXEMPLO DO “SCREENING” <i>IN VITRO</i> EM AREIA SÍLICA	61
APÊNDICE B – EXEMPLO DOS EXPERIMENTOS <i>IN VIVO</i>	61

1 INTRODUÇÃO

Os fitonematoides causam perdas na agricultura mundial, principalmente o nematoide-das-galhas, *Meloidogyne* Göldi, 1887 (Rhabditida: Meloidogynidae). As espécies de *Meloidogyne*, induzem a formação de galhas, nas raízes de hortaliças, fruteiras, soja, café, algodão, feijão e outras (CARNEIRO et al., 2016). As perdas anuais causadas por nematoides na agricultura são mais de 78–125 bilhões de dólares (SASSER; FRECKMAN, 1987; McCARTER, 2009). E para contornar este problema, programas sustentáveis de manejo integrado de nematoides tem sido implementado, utilizando agentes de biocontrole (MAZZUCHELLI; MAZZUCHELLI; DE ARAUJO et al., 2020). Esses agentes estão divididos entre fungos e bactérias, com destaque para o gênero *Bacillus*, que contempla 99% de todos os bionematicidas bacterianos já registrados no Brasil (AGROFIT, 2022).

No gênero *Meloidogyne* existem mais de 90 espécies descritas no mundo (SUBBOTIN; WAEYENBERGE; MOENS, 2013), das quais, *M. arenaria* (Neal) Chitwood, *M. incognita* (Kofoid; White) Chitwood, *M. javanica* (Treub) Chitwood e *M. hapla* Chitwood, representam até 95% dos nematoides-das-galhas em solos cultivados, dependendo da cultura (CARNEIRO et al., 2016). A espécie *M. incognita* é retratada como a mais importante economicamente, podendo ser encontrada em regiões de clima quente e temperado (KARSSSEN; MOENS, 2013).

O manejo desses nematoides é muito complexo, portanto, o mais importante antes de tudo é a prevenção da entrada destes nas áreas cultiváveis. Contudo, é possível implementar medidas de manejo, principalmente o controle químico e biológico. Esses podem ser aplicados por meio do tratamento de sementes, via sulco ou rega (MACHADO, 2016; MACHADO et al., 2016).

O controle biológico de nematoides por meio de bionematicidas cresceu em torno de 35% no Brasil na safra 2019/20 (CULTIVAR, 2020). É utilizado em grandes culturas como a soja, algodão, cana-de-açúcar, milho e na hortifruticultura. Porém, ainda existe uma demanda por novos microrganismos.

Os primeiros passos para obtenção de microrganismos eficientes no biocontrole de fitopatógenos é o isolamento no local da doença e, após várias triagens *in vitro* e *in vivo*, previamente estabelecidas, utilizando métodos validados, é possível

selecionar as cepas mais eficientes para o desenvolvimento de bioprodutos (COTES et al., 2019; KÖHL et al., 2011; KÖHL et al., 2019).

As bactérias do gênero *Bacillus*, *Pasteuria* e *Pseudomonas* são aquelas que mais se destacam no controle biológico de nematoides (PACIFICO; ECKSTEIN; BETTIOL et al., 2021; BISHOP et al., 2007; WANG et al., 2021). Essas atuam como antagonistas e/ou promotores de crescimento vegetal (ENGELBRECHT et al., 2018; FORGHANI; HAJIHASSANI, 2021; STIRLING, 2014).

Cepas específicas de *Bacillus* podem atuar no controle biológico de nematoides. A título de exemplo já foi constatado que *B. subtilis*, *B. amylolichofaciens*, *B. methylophilus* e *B. pumilus* são antagonistas à *Rotylenchulus reniformis*, *M. incognita*, *M. javanica*, *Ditylenchus destructor*, *Aphelenchoides besseyi*, *M. hapla* e *M. arenaria* (CASTILLO et al., 2013; GENG et al., 2016; XIA et al., 2011; MA et al., 2013; MOGHADDAM et al., 2014; LEE; KIM, 2016).

Diante disso, o objetivo deste estudo é selecionar isolados de bactérias para o controle biológico de *Meloidogyne incognita* e na promoção do crescimento vegetal.

REFERÊNCIAS

- ABALLAY, E.; PRODAN, S.; ZAMORANO, A. *et al.* Nematicidal effect of rhizobacteria on plant-parasitic nematodes associated with vineyards. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 33, n. 7, p. 131, 2017.
- ABBASI, M. W.; AHMED, N.; ZAKI, M. J. *et al.* Potential of *Bacillus* species against *Meloidogyne javanica* parasitizing eggplant (*Solanum melongena* L.) and induced biochemical changes. **Plant and Soil**, v. 375, n. 1, p. 159–173, 2014.
- ABD-ELGAWAD, M. M. M.; ASKARY, T. H. Fungal and bacterial nematicides in integrated nematode management strategies. **Egyptian Journal of Biological Pest Control**, v. 28, n. 1, p. 74, 2018.
- AGROFIT. **Sistemas de agrotóxicos fitossanitários**. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-agricolas/agrotoxicos/agrofit>>. Acesso em: 06 jan. 2022.
- BAKER K. F.; COOK, R. J. Biological control of plant pathogens. WH Freeman & Co., San Francisco. 1974.
- BELL, C. A.; LILLEY, C. J.; MCCARTHY, J. *et al.* Plant-parasitic nematodes respond to root exudate signals with host-specific gene expression patterns. **PLOS Pathogens**, v. 15, n. 2, p. e1007503, 2019.
- BEZERRA, T. N.; EISENDLE, U.; HODDA, M. *et al.* Nemys: World Database of Nematodes. *Meloidogyne* Goeldi, 1892. Disponível em: <<https://nemys.ugent.be/aphia.php?p=taxdetails&id=1294055>> Acesso em: 12 dez. 2021.
- BISHOP, A. H.; GOWEN, S. R.; PEMBROKE, B. *et al.* Morphological and molecular characteristics of a new species of *Pasteuria* parasitic on *Meloidogyne ardenensis*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 96, n. 1, p. 28–33, 2007.
- BONETI, J.I.S & FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, 6: 553, 1981.
- BURKETT-CADENA, M.; KOKALIS-BURELLE, N.; LAWRENCE, K. S. *et al.* Suppressiveness of root-knot nematodes mediated by rhizobacteria. **Biological Control**, v. 47, n. 1, p. 55–59, 2008.
- CARNEIRO, R. M. D. G.; MONTEIRO, J. M. S.; SILVA, U. C.; GOMES, G. Gênero *Meloidogyne*: diagnose através de eletroforese de isoenzimas e marcadores SCAR. IN: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO e SILVA, L. H. (Eds). **Diagnose de fitonematoides**. Vol. 1. Campinas, SP, Millennium Editora, p. 47–70, 2016.

CASTANEDA-ALVAREZ, C.; ABALLAY, E. Rhizobacteria with nematicide aptitude: enzymes and compounds associated. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 32, n. 12, p. 203, 2016.

CASTILLO, J. D.; LAWRENCE, K. S.; KLOEPPER, J. W. Biocontrol of the reniform nematode by *Bacillus firmus* GB-126 and *Paecilomyces lilacinus* 251 on Cotton. **Plant Disease**, v. 97, n. 7, p. 967–976, 2013.

CAVALIER-SMITH, T. The neomuran origin of archaeobacteria, the negibacterial root of the universal tree and bacterial megaclassification. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 52:7–76, 2002.

CHARLES, L.; CARBONE, I.; DAVIES, K. G. *et al.* Phylogenetic analysis of *Pasteuria penetrans* by Use of Multiple Genetic Loci. **Journal of Bacteriology**, 2005.

CHEN, J.; WU, Q.; HUA, Yi. *et al.* Potential applications of biosurfactant rhamnolipids in agriculture and biomedicine. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 101, n. 23, p. 8309–8319, 2017.

CHOI, T. G.; MAUNG, C. E. H.; LEE, D. R.; *et al.* Role of bacterial antagonists of fungal pathogens, *Bacillus thuringiensis* KYC and *Bacillus velezensis* CE 100 in control of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* and subsequent growth promotion of tomato. **Biocontrol Science and Technology**, v. 30, n. 7, p. 685–700, 2020.

CONRATH, U. *et al.* Priming for Enhanced Defense. **Annual Review of Phytopathology**, v. 53, p. 97–119, 2015.

COTES, A. M.; KÖHN, X. F. J. Diseño conceptual, selección y prueba de concepto de microorganismos biocontroladores (COTES, A. M (Ed.). **Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaro**, v. 2, AGROSAVIA, Mosquera, pp. 598–627, 2019.

CROSS, J. V.; SOLOMON, M. G.; CHANDLER, D.; *et al.* Biocontrol of pests of apples and pears in northern and central Europe: 1. Microbial agents and nematodes. **Biocontrol Science and Technology**, v. 9, n. 2, p. 125–149, 1999.

CULTIVAR, R. **Mercado de biológicos para a agricultura já movimentada quase R\$ 1 bilhão no Brasil**. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: <https://revistacultivar.com.br/noticias/mercado-de-biologicos-para-a-agricultura-ja-movimentada-quase-r-1-bilhao-no-brasil>. Acesso em: 12 abr. 2022.

DE LEY, P.; BLAXTER, M. L. A new system for Nematoda: combining morphological characters with molecular trees, and translating clades into ranks and taxa. **Nematology Monographs & Perspectives - Proceedings of the Fourth International Congress of Nematology**, 8–13 June 2002, Tenerife, Spain. 2: 633–653, 2004.

DEMÉTRIO, C. G. B.; HINDE, J.; Moral, R. A. Models for overdispersed data in entomology. *In*: Ferreira C., Godoy W. (eds). *Ecological Modelling Applied to Entomology*. Entomology in Focus, vol 1. **Springer**, Cham, 2014.

DERTZ, E. A.; STINTZI, A.; RAYMOND, K. N. Siderophore-mediated iron transport in *Bacillus subtilis* and *Corynebacterium glutamicum*. **Journal of biological inorganic chemistry**, v. 11, n. 8, p. 1087–1097, 2006.

DUTTA, T. K.; KHAN, M. R.; PHANI, V. Plant-parasitic nematode management via biofumigation using brassica and non-brassica plants: Current status and future prospects. **Current Plant Biology**, v. 17, p. 17–32, 2019.

E, G.-A.; AA, B.-B.; AL, K.-M.; *et al.* Avocado rhizobacteria emit volatile organic compounds with antifungal activity against *Fusarium solani*, *Fusarium* sp. associated with Kuroshio shot hole borer, and *Colletotrichum gloeosporioides*. **Microbiological research**, v. 219, 2019.

ELBANNA, K.; GAMAL-ELDIN, H.; ABUZAED, E. Characterization of egyptian fluorescent rhizosphere pseudomonad isolates with high nematicidal activity against the plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Journal of Biofertilizers & Biopesticides**, v. 1, n. 1, 2011.

ENGELBRECHT, G.; HORAK, I.; JANSEN VAN RENSBURG, P. J. *et al.* *Bacillus*-based bionematicides: development, modes of action and commercialisation. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28, n. 7, p. 629–653, 2018.

ENGELBRECHT, G.; RENSBURG, P. J. Jan van.; FOURIE, H.; *et al.* In vitro bioassays to determine the effect of *Bacillus* soli filtrates on the paralysis of *Meloidogyne incognita* second-stage juveniles. **Nematology**, v. 22, n. 2, p. 239–243, 2020.

FISCHER, A. Untersuchungen über Bakterien. Jahrbuch für Wissenschaftliche Botanik, 27: 1–163, 1895.

FORGHANI, F.; HAJIHASSANI, A. Recent Advances in the development of environmentally benign treatments to control root-knot nematodes. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 1125, 2020.

GAO, H.; QI, G.; YIN, R. *et al.* *Bacillus cereus* strain S2 shows high nematicidal activity against *Meloidogyne incognita* by producing sphingosine. **Scientific Reports**, v. 6, n. 1, p. 28756, 2016.

GARRITY, G. M.; BELL J. A.; LILBURN T. Ordem II. Acidithiobacillales ord. nov. *In*: BRENNER, D. J.; KRIEG, N. R.; STALEY, J. T.; GARRITY, G. M (eds). **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, 2^a ed., Vol. 2 (The Proteobacteria), parte B (The Gammaproteobacteria), Springer, New York, p. 60, 2005.

GENG, C.; NIE, X.; TANG, Z.; *et al.* A novel serine protease, Sep1, from *Bacillus firmus* DS-1 has nematicidal activity and degrades multiple intestinal-associated nematode proteins. **Scientific Reports**, v. 6, p. 25012, 2016.

GIBBONS, N. E.; MURRAY, R. G. E. Proposals concerning the higher taxa of bacteria. International **Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 28, n. 1, p. 1-6, 1978.

GIERTH, K. et al. Plant tolerance for managing plant parasitic nematodes. **IOBC WPRS BULLETIN**, v. 27, n. 1, p. 67-74, 2004.

GLICK, B. R. Plant Growth-Promoting Bacteria: Mechanisms and Applications. **Scientifica**, v. 2012, p. e963401, 2012.

GÖLDI, E. A. Relatoria sôbre a molestia do cafeiro na provincial da Rio de Janeiro. **Arquivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro** 8, 1–112, 1892.

HOSNY GAMAL, K. E. Characterization of egyptian fluorescent rhizosphere *Pseudomona* isolates with high nematicidal activity against the plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita*. **Journal of Biofertilizers & Biopesticides**, v. 01, n. 01, 2010.

HUANG, Y.; XU, C.; MA, Li. et al. Characterisation of volatiles produced from *Bacillus megaterium* YFM3.25 and their nematicidal activity against *Meloidogyne incognita*. **European Journal of Plant Pathology**, v. 126, n. 3, p. 417–422, 2010.

HUNT, D. J.; HANDOO, Z. A. Taxonomy, identification and principal species. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (eds.) *Root-Knot Nematodes*. Cambridge: CABI International, 2009, p. 55–97.

HUSSEY, R. S.; GRUNDLER, F. M. W. Nematode parasitism of plants. In: PERRY R. N.; WRIGHT, D. J. (eds) **Physiology and Biochemistry of Free-living and Plant-parasitic Nematodes**. CAB International, Wallingford, UK, pp. 213–243, 1998.

HUSSEY, S.; JANSSEN, G. J. W. Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* Species. In: **Plant resistance to parasitic nematodes**. J. L. STARR, R. COOK; J. BRIDG (edited by), 2002.

JAMAL, Q.; CHO, J.-Y.; MOON, J.-H.; et al. Identification for the first time of cyclo (d-Pro-I-Leu) produced by *Bacillus amyloliquefaciens* Y1 as a nematocide for control of *Meloidogyne incognita*. **Molecules: A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry**, v. 22, n. 11, p. 1839, 2017.

JAYAKUMAR, J. *Streptomyces avermitilis* as a biopesticide for the management of root knot nematode, *Meloidogyne incognita* in tomato. **Karnataka Journal of Agricultural Sciences**, v. 22, n. 3, p. 564–566, 2009.

JONATHAN, E. I.; BARKER, K. R.; ABDEL-ALIM, F. F. et al. Biological control of *Meloidogyne incognita* on tomato and banana with rhizobacteria, actinomycetes, and *Pasteuria Penetrans*. **Nematropica**, p. 231–240, 2000.

KARSSSEN, G.; MOENS, M. Root-knot nematodes. In: PERRY, R. L.; MOENS, M. (Eds). **Plant nematology**. Cambridge: CABI North America Office, p. 59–90, 2013.

KÖHL, J.; DE GEIJN, H. G.-van.; HAAS, L. G. et al. Stepwise screening of candidate antagonists for biological control of *Blumeria graminis* f. sp. tritici. **Biological Control**, v. 136, p. 104008, 2019.

KÖHL, J.; POSTMA, J.; NICOT, P. *et al.* Stepwise screening of microorganisms for commercial use in biological control of plant-pathogenic fungi and bacteria.

Biological Control, v. 57, n. 1, p. 1–12, 2011.

KOKALIS-BURELLE, N.; KLOEPPER, J.W.; REDDY, M.S. Plant growth-promoting rhizobacteria as transplant amendments and their effects on indigenous rhizosphere microorganisms. **Applied Soil Ecology**, v. 31, n. 1–2, p. 91–100, 2006.

KORSHUNOVA, T. Yu.; BAKAEVA, M. D.; KUZINA, E. V. *et al.* Role of bacteria of the genus *Pseudomonas* in the sustainable development of agricultural systems and environmental protection (Review). **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 57, n. 3, p. 281–296, 2021.

LANNA-FILHO, R.; FERRO, H. M.; PINHO, R. S. C. DE. Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*. *Revista Trópica: Ciências Agrárias e Biológicas*, v. 4, n. 2, p. 12–20, 2010.

LEE, Y. S.; KIM, K. Y. Antagonistic potential of *Bacillus pumilus* L1 against root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Phytopathology**, v. 164, n. 1, p. 29–39, 2016.

LI, J.; ZOU, C.; XU, J. *et al.* Molecular mechanisms of nematode-nematophagous microbe interactions: basis for biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, v. 53, p. 67–95, 2015.

LI, X.; HU, H.-J.; LI, J.-Y.; *et al.* Effects of the endophytic bacteria *Bacillus cereus* BCM2 on tomato Root exudates and *Meloidogyne incognita* Infection. **Plant Disease**, v. 103, n. 7, p. 1551–1558, 2019.

LIU, G.; LIN, X.; XU, S. *et al.* Screening, identification and application of soil bacteria with nematicidal activity against root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on tomato. **Pest Management Science**, v. 76, n. 6, p. 2217–2224, 2020.

LIU, K.; GARRETT, C.; FADAMIRO, H. *et al.* Induction of systemic resistance in Chinese cabbage against black rot by plant growth-promoting rhizobacteria. **Biological Control**, v. 99, p. 8–13, 2016.

LOGAN, N. A.; VOS, P. D. *Bacillus*. *Bergey's manual of systematics of archaea and Bacteria*, p. 1 – 163, 2015.

LOPES, E. A.; FERRAZ, S. Importância dos fitonematoides na agricultura. IN: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO e SILVA, L. H. (Eds). **Diagnose de fitonematoides**. Vol. 1. Campinas, SP, Millennium Editora, p. 1–10, 2016.

LUDWIG, J.; MOURA, A. B.; GOMES, C. B. Potencial da microbiolização de sementes de arroz com rizobactérias para o biocontrole do nematoide das galhas. **Tropical Plant Pathology**, v. 38, p. 264–268, 2013.

MA, Li.; CAO, Y. H.; CHENG, M. H. *et al.* Phylogenetic diversity of bacterial endophytes of panax notoginseng with antagonistic characteristics towards

pathogens of root-rot disease complex. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 103, n. 2, p. 299–312, 2013.

MACHADO, A. C. Z., KANEKO, L. PINTO, Z. V. Controle biológico. In: GALBIERI, R.; BELOT, J. L. (eds). **Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: Biologia e medidas de controle**. IMAmt, pp. 287–312, 2016.

MACHADO, A.C.Z. Controle químico. In: GALBIERI, R.; BELOT, J. L. (eds). **Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: Biologia e medidas de controle**. IMAmt, pp. 313–339, 2016.

MARHAVÝ, P.; KURENDA, A.; SIDDIQUE, S. *et al.* Single-cell damage elicits regional, nematode-restricting ethylene responses in roots. **The EMBO journal**, v. 38, n. 10, p. e100972, 2019.

MAZZUCHELLI, R. de 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, p. 104185, 2020.

MCCARTER, J. Molecular approaches toward resistance to plant-parasitic nematode. In: BERG, R.; TAYLOR, C. (Eds). **Cell Biology of plant nematode parasitism**. v. 15. Berlin/Heidelberg: Springer, p. 239-267, 2009.

McCULLAGH, P.; NELDER, J. A. Generalized Linear Models; Chapman and Hall: London, UK, 511 p., 1989.

MIGULA, W. Über ein neues System der Bakterien. Arb. Bakteriolog. Inst. Karlsruhe 1, 235-238 1894.

MOENS, M.; PERRY, R. N.; STARR, J. L. **Meloidogyne species – a diverse group of novel and important plant parasites**. In: PERRY, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Ed). Rootknot nematodes. Wallingford, UK, CAB International, p. 1- 17, 2009.

MOGHADDAM, R M.; MAHDIKHANI MOGHADDAM, E.; BAGHAEE RAVARI, S.; *et al.* The nematicidal potential of local *Bacillus* species against the root-knot nematode infecting greenhouse tomatoes. **Biocontrol Science and Technology**, v. 24, n. 3, p. 279–290, 2014.

MOHAMED, Z. K.; EL-SAYED, S. A.; RADWAN, T. *et al.* Potency evaluation of *Serratia marcescens* and *Pseudomonas fluorescens* as biocontrol agents for root-knot nematodes in Egypt. **undefined**, 2009.

MOLINARI, S.; LEONETTI, P. Bio-control agents activate plant immune response and prime susceptible tomato against root-knot nematodes. **PloS One**, v. 14, n. 12, p. e0213230, 2019.

MONNIER, N.; FURLAN, A.; BOTCAZON, C. *et al.* Rhamnolipids from *Pseudomonas aeruginosa* are elicitors triggering *Brassica napus* protection against *Botrytis cinerea* without physiological disorders. **Frontiers in Plant Science**, v. 0, 2018.

MORAL, R. A.; HINDE, J.; DEMÉTRIO, C. G. B. Half-normal plots and overdispersed models in R: The hnp package. **J. Stat. Softw**, 81, 23, 2017.

MORGADO, T. D. T.; GUERRA, J. D.; ARAUJO, F. F. de. *et al.* Effectiveness and persistence of biological control of nematodes in sugarcane. **African Journal of Agricultural Research**, v. 10, n. 49, p. 4490–4495, 2015.

MORRISSEY, J. P.; ABBAS, A.; MARK, L.; CULLINANE, M.; O'GARA, F. Biosynthesis of antifungal metabolites by biocontrol strains of *Pseudomonas*. **The Pseudomonads**, Vol. III (RAMOS, J. L, ed), pp. 635–670, 2004.

MUÑOZ TORRES, P.; CÁRDENAS, S.; ARISMENDI MACUER, M. *et al.* The Endophytic *Pseudomonas* sp. S57 for plant-growth promotion and the biocontrol of phytopathogenic fungi and nematodes. **Plants**, v. 10, n. 8, p. 1531, 2021.

OOSTENDORP, M.; DICKSON, D. W.; MITCHELL, D. J. Population Development of *Pasteuria penetrans* on *Meloidogyne arenaria*. **Journal of Nematology**, v. 23, n. 1, p. 58–64, 1991.

ORLA-JENSEN, S. The main lines of the natural bacterial system. **Journal of bacteriology**, v. 6, n. 3, p. 263-273, 1921.

PACIFICO, M. G.; ECKSTEIN, B.; BETTIOL, W. Screening of *Bacillus* for the development of bioprotectants for the control of *Fusarium oxysporum* f. sp. vasinfectum and *Meloidogyne incognita*. **Biological Control**, v. 164, p. 104764, 2021.

PADGHAM, J. L.; SIKORA, R. A. Biological control potential and modes of action of *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. **Crop Protection**, v. 26, n. 7, p. 971–977, 2007.

PANPATTE, D. G.; SHELAT, H. N.; JHALA, Y. K.; *et al.* Fortified bacterial consortium – A novel approach to control root knot nematode in cucumber (*Cucumis sativum*). **Biological Control**, v. 155, p. 104528, 2021.

PIGNATELLI, M. A.; MOYA, J. T. A database for describing the environmental distribution of prokaryotic taxa *Environ. Microbiol.* pp. 191-197, 2009.

PINHEIRO, J. B. Nematoides em hortaliças. Embrapa Hortaliças–Livro técnico (INFOTECA-E). 2017.

PRÉVOT, A. R. B. Em: HAUDUROY, P.; EHRINGER, G.; GUILLOT, G.; MAGROU, J.; PRÉVOT, A. R.; ROSSET, U. A (eds). **Dictionnaire des bacteries pathogenes**. 2^a ed., Masson, Paris, p. 692, 1953.

R Core Team R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2018.

SANSINENEA, E.; ORTIZ, A. Secondary metabolites of soil *Bacillus* spp. **Biotechnology Letters**, v. 33, n. 8, p. 1523–1538, 2011.

SARAF, M.; PANDYA, U.; THAKKAR, A. Role of allelochemicals in plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens. **Microbiological Research**, v. 169, n. 1, p. 18–29, 2014.

SASSER, J.N.; FRECKMAN, D.W. A word perspective on nematology: The role of the Society. In: VEECH, J.A; DICKSON, D.W. (Eds.). **Vistas os nematology: a Commemoration of the Twenty-fifth anniversary of the Society of nematologist**. Hyattsville: Society of Nematologist, p.7–14, 1987.

SAYRE, R. M.; STARR, M. P. *Pasteuria penetrans* a mycelial and endospore-forming bacterium parasitic in plant-parasitic nematodes. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington (USA)**, 1985.

SCHOUTEDEN, N.; DE WAELE, D.; PANIS, B. *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi for the biocontrol of plant-parasitic nematodes: A review of the mechanisms involved. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, p. 1280, 2015.

SIDDIQUE, S., GRUNDLER, F.M.W. **Chapter Five—Metabolism in Nematode Feeding Sites**. In C. Escobar., C. Fenoll (Eds.), *Advances in Botanical Research* (Vol. 73, pp. 119–138). Academic Press. 2015

SIDDIQUE, S.; GRUNDLER, F. M. W. Chapter Five - Metabolism in Nematode Feeding Sites. *In: ESCOBAR, C.; FENOLL, C. (Orgs.). Advances in Botanical Research*. [s.l.]: Academic Press, v. 73, p. 119–138, 2015.

SIDDIQUE, S.; GRUNDLER, F. M. W. Parasitic nematodes manipulate plant development to establish feeding sites. **Current Opinion in Microbiology**, v. 46, p. 102–108, 2018.

SIDDIQUI, I. A.; SHAUKAT, S. S. Systemic resistance in tomato Induced by biocontrol bacteria against the root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* is Independent of salicylic acid production. **Journal of Phytopathology**, v. 152, n. 1, p. 48–54, 2004.

SIDDIQUI, I. A.; SHAUKAT, S. S.; SHEIKH, I. H. *et al.* Role of cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in the suppression of root-knot nematode, *Meloidogyne javanica* in tomato. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 6, p. 641–650, 2006.

SIDDIQUI, I. A; SHAHID SHAUKAT, S. Suppression of root-knot disease by *Pseudomonas fluorescens* CHA0 in tomato: importance of bacterial secondary metabolite, 2,4-diacetylphloroglucinol. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 35, n. 12, p. 1615–1623, 2003.

SIDDIQUI, I. Ali.; HAAS, D.; HEEB, S. Extracellular Protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a biocontrol factor with activity against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 71, n. 9, p. 5646–5649, 2005.

SON, S. H.; KHAN, Z.; KIM, S. G. *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria, *Paenibacillus polymyxa* and *Paenibacillus lentimorbus* suppress disease complex

caused by root-knot nematode and fusarium wilt fungus. **Journal of Applied Microbiology**, v. 107, n. 2, p. 524–532, 2009.

SOUTHEY, J. F. Laboratory methods for work with plant and soil nematodes. 5th Ed. London, U. K. **Ministry of Agriculture Fisheries and Food**, 1970.

STIRLING, G. R. Biological control of plant-parasitic nematodes. 2nd ed (Wallingford, Oxfordshire, UK: CAB International) 2014.

SUBBOTIN, S.A.; WAEYENBERGE, L.; MOENS, M. Molecular Systematics. In: PERRY, R. N.; MOENS, M. (eds). CAB International 2013. Plant Nematology, 2nd, 40–60 pp.

SUN, X.; ZHANG, R.; DING, M. *et al.* Biocontrol of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* by a nematicidal bacterium *Pseudomonas simiae* MB751 with cyclic dipeptide. **Pest Management Science**, v. 77, n. 10, p. 4365–4374, 2021.

TAYLOR, D. P.; SASSER, J. N. **Biologia, identificación y control de los nematodos de nódulo de la raíz (*Meloidogyne* species)**. Raleigh: Universidad del Estado de Carolina del Norte, 111 p. 1983.

TYC, O.; SONG, C.; DICKSCHAT, J. S. *et al.* The ecological role of volatile and soluble secondary metabolites produced by soil bacteria. **Trends in Microbiology**, v. 25, n. 4, p. 280–292, 2017.

USTA, Canan. Microorganisms in Biological Pest Control — A Review (Bacterial Toxin Application and Effect of Environmental Factors). [s.l.]: IntechOpen, 2013. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/chapters/44118>>. Acesso em: 3 jan. 2022.

W, R.; N, L.; D, L. *et al.* Volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* WR-1 restrict the growth and virulence traits of *Ralstonia solanacearum*. **Microbiological research**, v. 192, 2016.

WANG, S.; FAN, H.; ZHAO, Di. *et al.* Multifunctional efficacy of the nodule endophyte *Pseudomonas fragi* in stimulating tomato immune response against *Meloidogyne incognita*. **Biological Control**, v. 164, p. 104773, 2021.

WATRIN, C.; SEKORA, N. Pasteuria species as a bio-control agent for control of plant-parasitic nematodes. In: **JOURNAL OF NEMATOLOGY**. PO BOX 311, MARCELINE, MO 64658 USA: SOC NEMATOLOGISTS, p. 254-255, 2014.

WHITEHEAD, A. G.; HERMMING, J. R. A comparison of some quantitative methods of extraction small vermiform nematodes from soil. *Annals of Applied Biology*, v. 55, 25-28, 1965.

WINSLOW, C. E.; BROADHURST, J.; BUCHANAN, R. E.; KRUMWIEDE J. r, C.; ROGERS, L. A.; SMITH, G. H. The families and genera of the bacteria preliminary report of the Committee of the Society of American Bacteriologists on characterization and classification of bacterial types. **Journal of bacteriology**, v. 2, n. 5, p. 505-566, 1917.

XIA, Y.; XIE, S.; MA, X. *et al.* The purl gene of *Bacillus subtilis* is associated with nematicidal activity. **FEMS microbiology letters**, v. 322, n. 2, p. 99–107, 2011.

XIANG, N.; LAWRENCE, K. S. Optimization of *in vitro* techniques for distinguishing between live and dead second stage juveniles of *Heterodera glycines* and *Meloidogyne incognita*. **PLOS ONE**, v. 11, n. 5, p. e0154818, 2016.

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, n. 7–8, p. 449–458, 2018.

XIANG, N.; LAWRENCE, K. S.; KLOEPPER, J. W. *et al.* Biological control of *Meloidogyne incognita* by spore-forming plant growth-promoting rhizobacteria on cotton. **Plant Disease**, v. 101, n. 5, p. 774–784, 2017.

ZHAI, Y.; SHAO, Z.; CAI, M. *et al.* Multiple modes of nematode control by volatiles of *Pseudomonas putida* 1^a00316 from antarctic soil 60against *Meloidogyne incognita*. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 253, 2018.

ZHANG, J.; HOWELL, C. R.; STARR, J. L. Suppression of *Fusarium* colonization of cotton roots and *Fusarium* wilt by seed treatments with *Gliocladium virens* and *Bacillus subtilis*. **Biocontrol Science and Technology**, v. 6, n. 2, p. 175–188, 1996.

ZHAO, J.; WANG, S.; ZHU, X. *et al.* Isolation and characterization of nodules endophytic bacteria *Pseudomonas protegens* Sneb1997 and *Serratia plymuthica* Sneb2001 for the biological control of root-knot nematode. **Applied Soil Ecology**, v. 164, p. 103924, 2021.

ZHOU, L.; YUEN, G.; WANG, Y. *et al.* Evaluation of bacterial biological control agents for control of root-knot nematode disease on tomato. **Crop Protection**, v. 84, p. 8–13, 2016.

ZHOU, Y.; CHEN, J.; ZHU, X. *et al.* Efficacy of *Bacillus megaterium* strain Sneb207 against soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) in soybean. **Pest Management Science**, v. 77, n. 1, p. 568–576, 2021.