

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

***Bacillus thuringiensis* NA SUPRESSÃO DE NEMATÓIDES E
AUMENTO NA PRODUTIVIDADE DE SOJA**

Daniel Dalvan do Nascimento

Engenheiro Agrônomo

2023

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

***Bacillus thuringiensis* NA SUPRESSÃO DE NEMATOIDES E
AUMENTO NA PRODUTIVIDADE DE SOJA**

Daniel Dalvan do Nascimento

Orientador: Prof. Dr. Pedro Luiz Martins Soares

Coorientadores: Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk

Profa. Dra. Janete Aparecida Desidério

**Tese apresentada à Faculdade de Ciências
Agrárias e Veterinárias – Unesp, Câmpus de
Jaboticabal, como parte das exigências para
a obtenção do título de Doutor em
Agronomia (Entomologia Agrícola)**

2023

N244b

Nascimento, Daniel Dalvan do

Bacillus thuringiensis NA SUPRESSÃO DE NEMATOIDES E AUMENTO NA PRODUTIVIDADE DE SOJA / Daniel Dalvan do Nascimento. -- , 2024

99 p. : il., tabs., fotos

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal,

Orientador: Pedro Luiz Martins Soares

Coorientador: Ricardo Antonio Polanczyk

1. Nematoda em plantas. 2. Bacillus thuringiensis. 3. Controle biológico. 4. Soja. 5. Sustentabilidade. I. Título.

IMPACTO POTENCIAL DESTA PESQUISA

Esta pesquisa impulsiona uma solução sustentável contra fitonematoides usando *Bacillus thuringiensis*. Os produtos gerados podem reduzir perdas de produtividade de forma eficiente e ambientalmente segura, diminuindo a dependência de nematicidas químicos. Alinha-se aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável da ONU, promovendo segurança alimentar, saúde e práticas agrícolas sustentáveis.

POTENTIAL IMPACT OF THIS RESEARCH

This study advances a sustainable solution against phytonematodes using *Bacillus thuringiensis*. The resulting products can efficiently and environmentally safely reduce productivity losses, decreasing reliance on chemical nematicides. It aligns with the United Nations' Sustainable Development Goals, promoting food security, health, and sustainable agricultural practices.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: *Bacillus thuringiensis* NA SUPRESSÃO DE NEMATOIDES E AUMENTO NA PRODUTIVIDADE DE SOJA

AUTOR: DANIEL DALVAN DO NASCIMENTO

ORIENTADOR: PEDRO LUIZ MARTINS SOARES

COORDENADOR: RICARDO ANTONIO POLANCZYK

COORDENADORA: JANETE APPARECIDA DESIDERIO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Agronomia (Entomologia Agrícola), pela Comissão Examinadora:

Prof. Dr. PEDRO LUIZ MARTINS SOARES (Participação Presencial)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
PEDRO LUIZ MARTINS SOARES
Data: 09/01/2024 11:52:04-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. GLEINA COSTA SILVA ALVES (Participação Virtual)
Departamento de Agronomia / Instituto Federal Goiano - Urutaí/GO

Prof. Dr. MÁRIO MASSAYUKI INOMOTO (Participação Virtual)
Departamento de Fitopatologia e Nematologia / ESALQ USP Piracicaba/SP



Prof. Dr. DANIEL JUNIOR DE ANDRADE (Participação Presencial)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
DANIEL JUNIOR DE ANDRADE
Data: 09/01/2024 10:41:39-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. RITA DE CÁSSIA PANIZZI (Participação Presencial)
Departamento de Ciências da Produção Agrícola / FCAV UNESP Jaboticabal



Documento assinado digitalmente
RITA DE CÁSSIA PANIZZI
Data: 08/01/2024 15:37:36-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Jaboticabal, 05 de dezembro de 2023



Documento assinado digitalmente
GLEINA COSTA SILVA ALVES
Data: 13/12/2023 08:47:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

Daniel Dalvan do Nascimento, natural de Vianópolis - GO, nascido em 16 de fevereiro de 1994, filho de Nicolina Maria de Souza Nascimento e de Joval Sebastião do Nascimento, completou o curso Técnico em Agropecuária em 2011 e formou-se em Agronomia em 2016 pelo Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí. Durante esse período, participou de quatro projetos de iniciação científica, todos direcionados ao estudo do manejo de fitonematoídeos sob orientação da Profa. Dra. Gleina Costa Silva Alves. Em março de 2017 ingressou no mestrado no Programa de Pós-graduação em Agronomia (Produção Vegetal) na Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal, em que deu continuidade aos estudos direcionados ao manejo de nematoídeos, dessa vez, com foco no controle biológico de nematoídeos na cultura de soja. Conquistou o título de Mestre em fevereiro de 2019, sob a orientação do Prof. Dr. Pedro Luiz Martins Soares e coorientação da Profa. Dra. Katia Cristina Kupper. No mês de março do mesmo ano, deu início ao Curso de Doutorado no Programa de Pós-graduação em Agronomia (Entomologia Agrícola), também na Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal. Sob a orientação do Prof. Dr. Pedro Luiz Martins Soares e coorientação do Prof. Dr. Ricardo Antonio Polanczyk e da Profa. Dra. Janete Aparecida Desidério, deu continuidade na linha de manejo de nematoídeos, com foco em controle biológico. Durante sua vida acadêmica, com o apoio de seus orientadores, publicou quatorze artigos científicos, sete capítulos de livros, mais de cinquenta resumos em congressos, dentre outras produções, como coorientações de alunos de iniciação científica, palestras e treinamentos. Atuou como professor convidado nos cursos de Pós-graduação em Proteção de Plantas na UNIRP e FAZU, em que ministrou a disciplina de Manejo Integrado de Nematoides. Na reta final do doutorado, aprovou dois projetos de inovação de âmbito nacional (programa Catalisa) e estadual (programa Centelha - SP), dos quais deram origem a fundação de sua empresa, local em que atua como Pesquisador em Nematologia.

"Assim como a gentileza da natureza se revela na complexidade da vida, a criatividade humana floresce quando abraçamos a aventura do desconhecido. Em busca do equilíbrio no mundo dos nematoides, descobri que, como na natureza, todos os desafios escondem um lado bom, esperando ser revelado." Daniel Dalvan

*Dedico,
aos meus pais, Joval e Nicolina.*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, sou grato a Deus por todas as bênçãos concedidas em minha trajetória.

À minha companheira, amiga e esposa, Jéssica Caixeta Rodrigues, que lutou essa batalha junto comigo, desde a execução ao apoio psicológico, sempre esteve ao meu lado, me amparando e fortalecendo para a concretização desse sonho que ela também tomou como seu.

Aos meus pais, Joval Sebastião do Nascimento e Nicolina Maria de Souza Nascimento, por me apoiarem e incentivarem mesmo distantes fisicamente, serei eternamente grato.

Ao professor Dr. Pedro Luiz Martins Soares, pelo apoio, ensino, orientação e exemplo de profissional e humano que foi a mim, durante todo esse período em seu laboratório. Agradeço também a confiança, a parceria e a amizade, assim como os seus ensinamentos.

Ao professor Dr. Ricardo Polanczyk, pela minha acolhida no programa, pelas orientações, confiança e amizade.

À professora Dra. Janete Aparecida Desidério, pela coorientação, amizade e colaboração no fornecimento das cepas para o projeto.

Aos membros da banca avaliadora do exame geral de qualificação, Profa. Dra. Gleina Costa Silva Alves e Profa. Dra. Nilza Maria Martinelli e aos membros da banca avaliadora da defesa da tese, Prof. Dr. Daniel Júnior de Andrade, Profa. Dra. Gleina Costa Silva Alves, Prof. Dr. Mário Massayuki Inomoto e Profa. Dra. Rita de Cássia Panizzi pelas valiosas considerações.

À toda equipe da Croppen, pela amizade, apoio e compreensão nos momentos que precisei me ausentar para dedicar a esse projeto, em especial, aos meus amigos e sócios Marcelo Mueller de Freitas e Fernanda Dias Pereira.

À equipe do LabNema (Rivanildo Ferreira, Valmir Ribeiro, Herick Nikuma, André Múscari, Suelen Carvalho) e cia, pela amizade e apoio na realização das atividades.

Aos meus amigos que estiveram juntos comigo nessa jornada e que de alguma forma contribuíram para essa conquista, seja no trabalho ou nos momentos de lazer.

Aos meus coorientados de IC, em especial ao Vitor Trigo e Daniella Nunes que abraçaram a ideia desse projeto junto comigo.

Por fim, expresso minha sincera gratidão a todas as pessoas que, embora não tenham sido mencionadas aqui, desempenharam um papel crucial na realização e sucesso deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais	1
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. A cultura da soja.....	4
2.2. Nematoides na cultura da soja	5
2.2.1. Nematóide de cisto da soja, <i>Heterodera glycines</i>	5
2.2.2. Nematoides de galha, <i>Meloidogyne javanica</i> e <i>Meloidogyne incognita</i>	9
2.2.3. Nematoides das lesões radiculares, <i>Pratylenchus brachyurus</i>	12
2.3. Manejo de nematoides	15
2.3.1. <i>Bacillus thuringiensis</i>	16
3. REFERÊNCIAS	20
CAPÍTULO 2 - SELEÇÃO DE <i>Bacillus thuringiensis</i> COMO AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO DE <i>Meloidogyne javanica</i> E PROMOTOR DE CRESCIMENTO DE SOJA	35
1. INTRODUÇÃO	37
2. OBJETIVOS	39
3. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.1. Origem e identificação da população de <i>Meloidogyne javanica</i>	39
3.2. Origem e cultivo dos isolados de <i>Bacillus thuringiensis</i>	41
3.3. Eficiência de isolados de <i>Bacillus thuringiensis</i> na mortalidade de juvenis de segundo de estágio de <i>Meloidogyne javanica in vitro</i>	41
3.4. Eficiência de isolados de <i>Bacillus thuringiensis</i> na redução populacional de <i>Meloidogyne javanica</i> e na promoção de crescimento de soja em casa de vegetação.....	43

3.5. Análise dos dados.....	44
4. RESULTADOS	45
4.1. Mortalidade <i>in vitro</i> de <i>Meloidogyne javanica</i> sob efeito de diferentes isolados de <i>Bacillus thuringiensis</i>	45
4.2. Promoção de crescimento de soja e supressão de <i>Meloidogyne javanica</i> por meio de diferentes isolados de <i>Bacillus thuringiensis</i> no tratamento de sementes de soja cv. BMX Desafio RR.....	48
5. DISCUSSÃO	56
6. CONCLUSÃO.....	58
7. REFERÊNCIAS	59
CAPÍTULO 3 – ISOLADOS DE <i>Bacillus thuringiensis</i> REDUZEM NEMATÓIDES E AUMENTAM A PRODUTIVIDADE DA SOJA.....	64
1. INTRODUÇÃO	66
2. OBJETIVOS	68
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	68
3.1. Origem e cultivo dos isolados de <i>Bacillus thuringiensis</i>	68
3.2. Experimento em casa de vegetação	69
3.2.1. Origem e manipulação das populações de <i>Meloidogyne javanica</i> e <i>Heterodera glycines</i>	70
3.2.2. Desenho e instalação do experimento em casa de vegetação	71
3.2.3. Avaliações do experimento em casa de vegetação	72
3.3. Experimento em campo.....	72
3.3.1. Desenho e instalação do experimento em campo	73
3.3.2. Avaliações do experimento em campo	73
3.4. Análise de dados dos experimentos	74
4. RESULTADOS	75

4.1.	Experimento em casa de vegetação	75
4.2.	Experimento em campo.....	81
5.	DISCUSSÃO	88
6.	CONCLUSÃO.....	92
7.	REFERÊNCIAS	92

***Bacillus thuringiensis* NA SUPRESSÃO DE NEMATOIDES E AUMENTO NA PRODUTIVIDADE DE SOJA**

RESUMO – A soja, como a cultura mais plantada no Brasil e uma fonte fundamental de proteína vegetal globalmente, enfrenta desafios significativos devido a problemas fitossanitários, particularmente com os nematoides. Dentre as espécies de maior importância, destacam-se o nematoide de cisto, *Heterodera glycines*, os nematoides de galha, *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*, e o nematoide das lesões radiculares, *Pratylenchus brachyurus*. Embora avanços tecnológicos tenham aumentado a produtividade da soja nos últimos anos, perdas substanciais ainda ocorrem devido aos nematoides. O crescimento populacional do planeta tem demandado cada vez mais alimento, isso somado à demanda mundial por sustentabilidade tem impulsionado a utilização de bio defensivos, que protegem e aumentam o rendimento das culturas de forma sustentável. Para abordar essa questão, este trabalho objetivou explorar o potencial de *Bacillus thuringiensis*, conhecido por seu sucesso no controle de pragas, como um bioinsumo para mitigar os danos por nematoides e promover o crescimento da soja. Vários isolados de *B. thuringiensis* foram testados em relação à sua capacidade de controlar *M. javanica* e estimular o crescimento das plantas. A partir desse estudo, descobriu-se que alguns isolados suprimiram eficazmente a população de *H. glycines* e *M. javanica* nas raízes e, também, promoveram o crescimento da soja. Além disso, estudos em campo demonstraram que esses isolados, podem reduzir significativamente os danos causados pelos nematoides e aumentar a produtividade da soja. Os resultados demonstraram que *B. thuringiensis* pode vir a ser um importante agente de biocontrole de nematoides, contribuindo para a sustentabilidade da agricultura e a segurança alimentar, especialmente considerando a relevância da soja na produção global de alimentos.

Palavras-chave: Fitonematoides, *Meloidogyne javanica*, *Heterodera glycines*, controle biológico, nematoides da soja, *Bacillus thuringiensis*

SUPPRESSION OF NEMATODES AND REDUCTION OF LOSSES IN SOYBEAN CULTURE THROUGH *Bacillus thuringiensis*

ABSTRACT - Soybean, as the most planted crop in Brazil and a fundamental source of global vegetable protein, faces significant challenges due to phytosanitary problems, particularly nematodes. Among the most important species are the cyst nematode, *Heterodera glycines*, the root-knot nematodes (*Meloidogyne javanica* and *Meloidogyne incognita*) and the root-lesion nematode, *Pratylenchus brachyurus*. Although technological advances have increased soybean productivity in recent years, substantial losses still occur. The planet's population growth has demanded more and more food, this coupled with the global demand for sustainability has driven the use of bio-defensives, which protect and increase crop yields sustainably. To address this issue, this study aimed to explore the potential of *Bacillus thuringiensis*, known for its success in pest control, as a bio-product to mitigate nematode damage and promote soybean growth. Several isolates of *B. thuringiensis* were tested for their ability to control *M. javanica* and stimulate plant growth. From this study, it was found that some isolates effectively suppressed the population of *H. glycines* and *M. javanica* in the roots and promoted soybean growth. In addition, field studies showed that these isolates can significantly reduce damage caused by nematodes and increase soybean productivity. The results demonstrated that *B. thuringiensis* could become an important nematode biocontrol agent, contributing to the sustainability of agriculture and food security, especially considering the relevance of soybeans in global food production.

Keywords: Phytonematodes, *Meloidogyne javanica*, *Heterodera glycines*, biological control, soybean nematodes, *Bacillus thuringiensis*

CAPÍTULO 1 - Considerações Gerais

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de grãos no Brasil está em pleno crescimento, prevendo-se um aumento de 19,1% entre 2022/23 e 2032/33, passando de 77,5 milhões de hectares para 92,3 milhões de hectares, com um aumento anual médio de 1,7%. Até 2032/2033, a produção de grãos no Brasil deverá atingir 389,3 milhões de toneladas, um aumento de 24,1% em relação à safra atual (CONAB, 2023). Este será o maior rendimento já registrado no país, com um crescimento anual médio de 2,4%. As projeções indicam que as áreas de soja, *Glycine max* (L.) Merrill, devem aumentar em 27,5% nos próximos 10 anos (MAPA, 2023).

A soja é importante tanto como cultura de grãos oleaginosos para alimentação de animais, quanto como matéria-prima para biocombustíveis (Fernandes et al., 2022). A soja é única entre as culturas porque pode fornecer proteína de qualidade igual à das fontes animais, tornando-a uma excelente fonte de proteína para a dieta humana (Parfitt et al., 2010). A procura de soja e seus derivados aumentou na última década, desafiando a confiabilidade do fornecimento, os níveis de estoques e os preços competitivos (Parfitt et al., 2010; Saath e Fachinello, 2018). O crescimento previsto da população global para aproximadamente 10 bilhões de pessoas até 2050 (Saath e Fachinello, 2018) e os efeitos das alterações climáticas (Gupta et al., 2020) aumentaram a necessidade de práticas agrícolas sustentáveis e altamente eficientes para garantir a segurança alimentar global (Rellán-Álvarez et al., 2016).

Dentre os fatores limitantes de produtividade da soja, destacam-se os fitonematoides (Soares e Nascimento, 2021). Fitonematoides são vermes habitantes do solo, que parasitam diferentes partes das plantas, especialmente as raízes. Os danos causados ao sistema radicular vão desde competição por nutrientes a deterioração dos tecidos das plantas (Ferraz e Brown, 2016). As principais espécies de nematoides que acometem a soja no Brasil, são: o nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe), o nematoide das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus* (Godfrey) Filipjev e Schuurmans Stekhoven), os nematoides de galha

(*Meloidogyne incognita* (Kofoid e White) Chitwood, e *Meloidogyne javanica* (Treub) Chitwood), o nematoide reniforme (*Rotylenchulus reniformis* Linford e Oliveira) e o nematoide da retenção foliar e haste verde da soja (*Aphelenchoides besseyi* Christie). Em ordem de importância, as quatro primeiras espécies destacam-se, principalmente pelos danos severos e frequência de ocorrência (Dias-Arieira et al., 2023; Soares e Nascimento, 2021).

Os métodos mais recomendados no manejo dos nematoides de plantas são, o uso de cultivares resistentes, rotação de culturas e os controles químico e biológico (Soares e Nascimento, 2021). O uso de cultivares resistentes é uma das estratégias de manejo mais eficientes. Entretanto, as fontes de resistência genética utilizadas na produção comercial de soja são limitadas e populações resistentes de nematoides começaram a surgir pela intensificação do uso único da tecnologia (Klink e Matthews, 2009). Além disso, é comum áreas infestadas com mais de uma espécie de nematoide, o que limita o uso da resistência genética.

A rotação de culturas com plantas não hospedeiras e/ou resistentes, é a forma de controle de nematoides mais efetiva (Ferraz et al., 2010; Nascimento et al., 2016, 2020). As espécies de *Meloidogyne* e *P. brachyurus* são polípagas, restringindo as opções de plantas não hospedeiras a serem utilizadas pelos produtores (Inomoto e Asmus, 2010; Sikora et al., 2021). A frequência de áreas com mais de uma espécie de fitonematoides, também podem dificultar o uso dessa ferramenta. Esses fatores, limitam o emprego da rotação de culturas, principalmente devido à indisponibilidade de plantas não hospedeiras atrativas economicamente ao produtor.

O controle de nematoides por meio de moléculas químicas é um método que já foi bastante empregado na agricultura mundial (Dong e Zhang, 2006). Embora seja eficiente, pode ser tóxico ao ambiente e ao ser humano, além de causar desequilíbrio à biota do solo, devido à baixa seletividade (Rani et al., 2021). Por esse fato, somado à pressão mundial por utilização de tecnologias menos poluentes e seletivas, muitos produtos químicos considerados eficientes foram retirados do mercado, e os restantes tendem a ser cada vez menos utilizados (Rani et al., 2021; Riga, 2011). Ademais, os nematicidas químicos disponíveis são onerosos e apresentam baixo período residual no solo (Riga, 2011). Embora novas moléculas tenham surgido com período residual

mais longo, no caso da soja, esses produtos são em maioria registrados apenas para utilização no ato da semeadura, resultando em um aumento exacerbado da população do nematoide após o término do período de ação.

O controle biológico tem se tornado a principal ferramenta de manejo utilizado pelos produtores. A eficiência de controle somada aos ganhos de rendimento na cultura, custo e praticidade de utilização têm sido os principais fatores responsáveis pelo crescimento na adoção dessa ferramenta (Soares et al., 2017). Fatores atrelados a sustentabilidade têm incentivado a indústria a investir cada vez mais nesse mercado, com espécies e cepas mais eficientes, além de investimentos em formulação e posicionamento da tecnologia (Lahlali et al., 2022). Além disso, o controle biológico está ligado diretamente a ao menos nove dos 17 objetivos de desenvolvimento sustentável, propostos pela ONU (United Nations, 2023), o que impulsiona ainda mais investimentos no setor.

Como base para qualquer programa de controle biológico, o primeiro passo é a seleção de cepas e espécies de microrganismos com características desejáveis. *Bacillus thuringiensis* Berliner é mundialmente conhecido por seu sucesso no controle de insetos, especialmente os da ordem Lepidóptera (Polanczyk et al., 2022). Embora as características que lhe conferem eficiência contra insetos e outros artrópodes também já tenham sido confirmadas para nematoides (Ruan et al., 2015), o uso desses microrganismos para esse propósito ainda é pouco empregado.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura da soja

A soja é a cultura reconhecida como o principal produto alimentar do mundo, devido ao alto teor de proteína e de óleo, destinados a alimentação humana e animal (Parfitt et al., 2010). A soja cultivada atualmente é muito diferente de seus ancestrais, cujo centro de origem é a Ásia, mais especificamente o Japão. Sua domesticação surgiu a partir do cruzamento natural entre duas espécies selvagens, que foram domesticadas e melhoradas por pesquisadores da China antiga (Jeong et al., 2019).

A soja foi introduzida no Brasil em 1914, na região de Santa Rosa – RS, embora tentativas de adaptação em território brasileiro já haviam sido realizadas na Bahia, ainda em 1882 (Alves et al., 2003; EMBRAPA, 2023). Com o desenvolvimento de cultivares adaptadas ao clima e às pragas e doenças locais, o cultivo da soja iniciou sua expansão de sul a norte do país, ganhando maior notoriedade por volta dos anos 1970 devido ao aumento do preço do grão no cenário internacional (EMBRAPA, 2023).

Atualmente, o Brasil é o maior produtor e exportador de soja do mundo, com uma produção recorde de 154,6 milhões de toneladas na safra 2022/23, sendo responsável por 33,8% da produção mundial de soja (CONAB, 2023; FAO, 2023). A área de soja plantada no Brasil na safra 2022/2023 foi de 44,1 milhões de hectares e a produtividade média foi de 3,5 toneladas por hectare, com um aumento de 15,9% em relação à safra anterior. As exportações de soja em grãos foram estimadas em 97 milhões de toneladas na safra 2022/23 (CONAB, 2023).

Apesar do progresso em termos de produção e rendimento, muito são os fatores limitantes que afetam toda a cadeia produtiva da soja. Dentre eles, destacam-se as perdas por ineficiência logística (Friend e Lima, 2011), por condições relacionadas às instabilidades climáticas (Fernandes et al., 2022), pelo manejo nutricional inadequado (Bossolani et al., 2022) e perdas por problemas fitossanitários, como, doenças, pragas, plantas daninhas e nematoides (Barros et al., 2019; Bradley et al., 2021; Dias-Arieira et al., 2023; Reis e Rafael, 2011).

2.2. Nematoides na cultura da soja

2.2.1. Nematóide de cisto da soja, *Heterodera glycines*

Os nematoides de cisto são parasitas altamente especializados que têm interações exclusivas com as plantas. As espécies desse grupo são endoparasitos obrigatórios que se alimentam nas raízes das plantas hospedeiras, por meio do estabelecimento de sítios de alimentação, conhecidos como sincícios (Rodiuc et al., 2014). Após a fertilização e a postura de ovos, o corpo da fêmea se endurece e seca, formando um cisto enrijecido que contém uma grande quantidade de ovos embrionados. Esses ovos podem permanecer viáveis por longos períodos até que um hospedeiro adequado esteja disponível (Moens et al., 2018). Essa capacidade de persistência é uma das características que explicam a importância econômica desse grupo, especialmente em condições de baixa densidade de nematoides.

O ciclo de vida de *H. glycines* começa com a eclosão dos juvenis pré-infectivos chamados J2. Esses J2 migram em direção às raízes da soja atraídos pelos exsudados radiculares e penetram na coifa da raiz. Uma vez no interior da raiz, se fixam a uma célula próxima ao tecido vascular e iniciam o estabelecimento de um local de alimentação (Moens et al., 2018). O local de alimentação é estabelecido pela injeção de substâncias nas células da planta hospedeira, levando a alterações fisiológicas e anatômicas, resultando na formação de um sincício, uma estrutura complexa de células altamente especializadas que serve como fonte de nutrientes para o nematóide (Rodiuc et al., 2014). Os J2 passam por mais 2 estádios sedentários até se tornarem adultos (Moens et al., 2018).

Os machos de *H. glycines*, ao atingir a fase adulta, deixam de ser sedentários e se tornam vermiformes de vida livre, passando a buscar fêmeas para a cópula. As fêmeas ao atingirem a maturidade, permanecem obesas e sedentárias, expondo a região posterior para fora da raiz para a cópula e oviposição. Cada fêmea deposita de 200 a 600 ovos. Após a morte, a fêmea se transforma em cisto, estrutura rígida que envolve e protege os ovos (Dias et al., 2004; Moens et al., 2018).

O cisto, de coloração marrom-escuro, repleto de ovos é altamente resistente à decomposição e à dessecação. Na ausência de uma planta hospedeira, o cisto de *H.*

glycines pode sobreviver no solo por mais de oito anos (Dias et al., 2010; Lordello et al., 1992). O ciclo de vida de *H. glycines* em temperaturas do solo variando de 23°C a 36°C dura aproximadamente de 15 a 30 dias (Araújo et al., 2019; Cunha et al., 2008). Assim, é possível obter de três a sete gerações de nematoides durante o ciclo da cultura da soja.

A infestação de *H. glycines* em soja causa sintomas como nanismo, amarelecimento das plantas, perda de folhas, redução na nodulação e queda na produtividade, agravados por condições deficientes de solo e manejo inadequado (Dias et al., 2004). Os sintomas da infestação de nematoides aparecem em plantas agrupadas, normalmente em reboleiras e, em muitos casos, com plantas mortas. O sistema radicular é reduzido e fica infestado por pequenas fêmeas de *H. glycines*, que podem ser vistas a olho nu.

Quando a fêmea morre, seu corpo se transforma em cápsulas de grande resistência, que se desprende da raiz e permanece no solo (Dias et al., 2010; Lordello et al., 1992). Essa estrutura, que resulta na proteção dos ovos e juvenis recém eclodidos de predadores e de intempéries, recebe o nome de cisto e caracteriza o grupo (Bohlmann, 2015).

Os nematoides de cisto são relacionados a grandes perdas econômicas em todo o mundo, já que várias espécies afetam culturas consideradas de grande importância econômica (Jones et al., 2013). Esses nematoides pertencem a oito gêneros diferentes na subfamília Heteroderinae, incluindo *Heterodera*, *Globodera*, *Cactodera*, *Dolichodera*, *Paradolichodera*, *Betulodera*, *Punctodera* e *Vittatidera* (Perry et al., 2018). No entanto, é importante salientar que nem todos os gêneros da Heteroderinae produzem cistos, como é o caso de *Atalodera*, *Bellodera*, *Meloidodera* e *Verutus* (Evans e Rowe, 1998). As espécies economicamente mais relevantes estão nos gêneros *Heterodera* e *Globodera* (Jones et al., 2013).

O nematoide de cisto da soja (SCN), *Heterodera glycines*, é conhecido como o nematoide de maior importância mundial para a soja (Jones et al., 2013). Foi relatado pela primeira vez no Japão em 1915 por Hori (1915), mas a espécie já era conhecida antes disso e acreditava-se ser *H. schachtii* Schmidt (Ishikawa, 1916). Ishikawa se referiu à doença da soja como “Tsukiyobo”, que se traduz em “doença da noite da lua”

em referência às manchas ovais amarelas pálidas de plantas de soja doentes. Posteriormente foi chamado como “Daizu-iwo-byo” ou “doença da soja amarela anã” (Ito, 1921), o nome mais próximo do utilizado atualmente, “nanismo amarelado da soja”.

Nos Estados Unidos, segundo maior produtor mundial de soja, o nematoide de cisto da soja é considerado o patógeno de maior importância para a cultura, sendo sozinho responsável por cerca de 26,2% do total das perdas ocasionadas por doenças e nematoides à cultura (Bradley et al., 2021). No Brasil, a primeira detecção do nematoide de cisto da soja ocorreu na safra de 1991/1992 (Lima et al., 1992; Lordello et al., 1992; Monteiro e Morais, 1992). Em 2003, o nematoide foi detectado em 107 municípios nos 9 principais estados produtores de soja do país (Dias et al., 2004).

Atualmente, o nematoide de cisto da soja está disseminado em todas as regiões produtoras de soja do Brasil. Projeções apontam que essa espécie se encontra presente em 9% das áreas de soja cultivadas no país, podendo chegar a 29% até 2030 (BLINK, 2021). Ademais, características como o tamanho microscópico, o hábito de vida no solo, e a maior tolerância das cultivares aos sintomas dos nematoides, dificultam a detecção do nematoide/sintoma, o que sugere que os danos e ocorrência sejam ainda maiores. Em áreas com elevada população do nematoide, especialmente quando associadas ao excesso de calagem, raça, suscetibilidade da cultivar e fertilidade do solo, as perdas de rendimento de grãos podem chegar a 100% (Dias et al., 2009).

As diferenças de virulência entre as populações de *H. glycines* são conhecidas como raças. Essas diferenças foram observadas pela primeira vez durante programas de melhoramento nos EUA para variedades de soja resistentes (Golden et al., 1970). O termo 'raças' foi usado para definir populações de campo com diferentes habilidades de reprodução em linhagens de plantas portadoras de diferentes fontes de resistência e em cultivares resistentes. Quatro linhagens diferenciadoras de soja ('Pickett', 'Peking', 'PI 88788' e 'PI 90763') foram usados nesse teste de raça, com a linhagem 'Lee' como padrão suscetível. As raças resultantes desse método podem ser visualizadas na Tabela 1. Uma resposta resistente (avirulência) foi definida como um Índice de Fêmeas <10% do que o obtido em 'Lee' (Moens et al., 2018).

TABELA 1. Raças do nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines*, de acordo com os esquemas de determinação de raça de Golden et al. (1970) e Riggs e Schmitt (1988).

Raça	Pickett	Peking	PI 88788	PI 90763
1	-	-	+	-
2	+	+	+	-
3	-	-	-	-
4	+	+	+	+
5	+	-	+	-
6	+	-	-	-
7	-	-	+	+
8	-	-	-	+
9	+	+	-	-
10	+	-	-	+
11	-	+	+	-
12	-	+	-	+
13	-	+	-	-
14	+	+	-	+
15	+	-	+	+
16	-	+	+	+

A determinação da raça é feita com base no padrão de classificações "+" e "-" para cada raça. A classificação "+" é dada se o número de fêmeas produzidas por uma população de *H. glycines* em cada diferenciadora de soja for igual ou superior a 10% do número produzido na cultivar suscetível padrão Lee. Se o número de fêmeas for inferior a 10%, é atribuída uma classificação "-".

Quando o número de diferenciadoras foi aumentado para 12 linhagens de soja resistentes, foram identificadas 25 raças diferentes (Riggs et al., 1981), evidenciando a limitação do método de classificação. Como as populações de *H. glycines* variam em diversidade genética, e essa variação tem implicações para estratégias de manejo, era necessário um mecanismo para documentar e discutir as diferenças populacionais. Em 2002 foi proposto outro método de classificação, Teste do Tipo HG, para descrever melhor a variação populacional e expandir a flexibilidade do sistema de classificação por raça (Niblack et al., 2002).

O sistema do Tipo HG é mais focado em identificar características genéticas específicas das populações de *H. glycines* e não em agrupá-las em raças. Para isso utiliza três dos quatro genótipos de soja resistentes usadas como hospedeiras indicadoras ('Peking' (= 'PI 548402'), 'PI 88788' e 'PI 90763'). A reprodução de 10%

ou mais em uma cultivar resistente, em comparação com a suscetível 'Lee 74', resulta em uma designação de compatibilidade. A virulência é medida com o Índice de Fêmeas usando o número de fêmeas em 'Lee 74' e na cultivar de teste (Niblack et al., 2002).

No Brasil, a classificação de raças ainda é prevalente, devido a sua maior simplicidade, facilitando a classificação e as recomendações de manejo a campo. São conhecidas 11 raças de nematoides de cisto no Brasil: 1, 2, 3, 4, 4+, 5, 6, 9, 10, 14 e 14+ (Dias et al., 2010). As raças 4+ e 14+, variantes das raças 4 e 14, são encontradas apenas no Brasil e foram caracterizadas pela capacidade dessas populações de superarem a resistência da cultivar "Hartwig", mas não de PI 437654 (Dias et al., 1998).

2.2.2. Nematoides de galha, *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*

Embora relato de pequenos vermes ocorrendo dentro de raízes de pepino com galhas tenha sido reportado ainda em 1855 pelo micologista Berkeley (1855). O gênero *Meloidogyne* foi proposto somente em 1887 por Göeldi, em que realizou a descrição de *Meloidogyne exigua*, um nematoide que causava galhas nas raízes de café no estado do Rio de Janeiro, no Brasil (Subbotin et al., 2021). Os nematoides de galha são parasitas que invadem as raízes das plantas e estabelecem locais fixos de alimentação dentro do cilindro vascular central, os tecidos modificados, tornam-se galhas permanentes (Goto et al., 2013).

Mais de 100 espécies já foram descritas para o gênero *Meloidogyne*, das quais muitas são de importância econômica (Sikandar et al., 2020). A grande diversidade de espécies, somada a severidade dos danos classificam os nematoides de galha como os mais importantes para a agricultura mundial (Jones et al., 2013). A diversidade de hospedeiros de *Meloidogyne* também é um dos principais entraves para o manejo assertivo desse grupo (Sikora et al., 2021).

Meloidogyne incognita e *M. javanica* destacam-se entre os nematoides de galhas na cultura da soja devido à sua severidade e frequência de ocorrência, o que os torna um dos maiores problemas da cultura (Soares e Nascimento, 2021). Estudos

em condições controladas, avaliando o efeito de diferentes níveis populacionais de *M. javanica* em soja, demonstraram perdas de até 71% na quantidade de vagens e de até 18% no peso de mil grãos, além redução no teor de proteína das plantas infestadas (Castanheira et al., 2021). No campo, *M. javanica* pode provocar reduções de 10 a 40% na produtividade da soja (Almeida et al., 2005; Miranda et al., 2011). Os danos podem ser ainda maiores quando associados a altos níveis populacionais, estresses abióticos, desequilíbrio nutricional e cultivares sensíveis (Castanheira et al., 2021; Dias-Arieira et al., 2023).

Tal como ocorre com outros fitonematoides, os nematoides de galha têm seis fases de vida, começando com o ovo, quatro estádios juvenis e terminando na fase adulta. O hábito de parasitismo dos nematoides de galha é caracterizado como endoparasita sedentário (Goto et al., 2013; Meidani et al., 2019). Os nematoides de galha geralmente se reproduzem por partenogênese mitótica, mas algumas espécies podem usar a partenogênese meiótica facultativa quando ocorrem condições de estresse ou superpopulação (Jones e Goto, 2011). Os nematoides de galha invadem as raízes das plantas hospedeiras em seu único estágio infectivo, o juvenil de segundo estágio (J2). Uma vez que os J2 eclodem, se deslocam pelo solo em busca de raízes de plantas hospedeiras, sendo atraídas por gradientes químicos na região próxima às raízes. Essas substâncias são detectadas pelos J2, permitindo o encontro da planta hospedeira (Jones e Goto, 2011).

Os J2 após eclodirem do ovo e encontrar a raiz hospedeira, penetram na raiz na região de alongamento radicular, usando uma combinação de perfuração mecânica com seu estilete e secreções enzimáticas, que podem degradar as paredes celulares das plantas. Apesar da degradação enzimática das paredes celulares, as plantas hospedeiras geralmente não ativam uma resposta de defesa típica em interação com nematoides desse gênero (Goto et al., 2013; Jones e Goto, 2011). A migração dos J2 é principalmente intercelular, e se movem em direção aos feixes vasculares do cilindro central, onde as células gigantes de alimentação serão induzidas (Jones e Goto, 2011).

O nematoide ao se alojar na raiz passa a interagir fisiologicamente, por meio da liberação de compostos proteicos injetados através do estilete, alterando a

fisiologia e a morfologia das células vegetais. As células alteradas apresentam o desenvolvimento de vários núcleos (multinucleadas), resultando no crescimento anormal das células (cenócitos) (Meidani et al., 2019). Galhas radiculares são produzidas quando o tecido vegetal aumenta anormalmente como resultado do surgimento das células girantes e da divisão celular descontrolada das células adjacentes (Jones e Goto, 2011; Meidani et al., 2019).

Uma vez estabelecido a infecção, o J2 passa pelos estádios J3 e J4 até chegar a fase adulta. O processo de diferenciação sexual depende do estresse e da resposta do hospedeiro. O macho, vermiforme, migra em direção ao solo, fora da raiz sem se alimentar, enquanto a fêmea imóvel permanece no tecido da planta. Aproximadamente três semanas após a penetração na raiz, a fêmea inchada, com forma de pera, começa a depositar os ovos. A produção de ovos ocorre sem cruzamento sexual. Mesmo que machos sejam presentes, eles são dispensáveis para a reprodução (Bleve-Zacheo et al., 2007).

A fêmea deposita os ovos em uma matriz gelatinosa (massa de ovos), sendo que cada matriz de ovos pode conter de 500 a 2.000 ovos. As massas de ovos são depositadas externamente na superfície das raízes (Bleve-Zacheo et al., 2007). A fêmea morre após finalizar a postura, completando o ciclo de vida que dura entre 25 e 30 dias, a depender da espécie e condições ambientais (Bleve-Zacheo et al., 2007; Ferraz e Brown, 2016).

Os ovos em matrizes frequentemente permanecem ligados a fragmentos de raiz no solo após a morte da fêmea. Os juvenis podem eclodir imediatamente de ovos e reinfestar a raiz, já os juvenis não eclodidos podem se manter viáveis até o próximo ciclo de cultivo, sobrevivendo até 12 meses dentro do ovo (Bleve-Zacheo et al., 2007). Os primeiros sinais podem ser observados no sistema radicular da planta, onde as galhas usualmente aparecem nas raízes mais finas. Em infestações severas, a raiz pode apresentar galhas volumosas e contínuas que se assemelham a uma raiz tuberosa, além de uma redução no número de raízes secundárias. Algumas reações da planta a infestação podem ser reconhecidas pela presença de plantas subdesenvolvidas, de cor amarelada e murchas durante as horas mais quentes do dia (Bleve-Zacheo et al., 2007; Soares e Nascimento, 2021).

Os sintomas da infestação de *Meloidogyne* nas lavouras normalmente ocorrem em manchas/reboleiras, resultando em dosséis irregulares e baixa produtividade. Níveis altos de infestação, associado a outras condições de estresse biótico ou abiótico, podem causar a morte das plantas. Além disso, a presença desse nematoide favorece ou agrava a incidência de outras doenças, como é o caso de fungos e outros fitoparasitas (Bleve-Zacheo et al., 2007; Soares e Nascimento, 2021).

2.2.3. Nematoides das lesões radiculares, *Pratylenchus brachyurus*

Em 1865, um nematoide do grupo dos nematoides das lesões radiculares havia sido estudado e nomeado *Tylenchus obtusus* Bastian. Entretanto, devido à descrição e às figuras apresentadas, não foi possível realizar uma identificação específica naquela época. Em 1880, um segundo registro com a apresentação das informações necessárias foi encontrado em um prado na Inglaterra. Essa espécie foi inicialmente denominada *Tylenchus pratensis* De Man, sendo posteriormente renomeada como *Pratylenchus pratensis* De Man (Lordello, 1988).

As espécies de *Pratylenchus* são classificadas como o terceiro grupo de nematoides mais importante nas plantas cultivadas em todo o mundo (Jones et al., 2013). Todavia, podem ser os de maior importância em culturas específicas, como é o caso de alguns cereais cultivados na Austrália, com danos estimados de até 70% (Jones e Fosu-Nyarko, 2014; Thompson et al., 2008). O levantamento mais recente, aponta que o gênero *Pratylenchus* compreende 89 espécies (Jones e Fosu-Nyarko, 2014). Os nematoides das lesões têm uma distribuição global ampla em todos os continentes, incluindo Antártica (Castillo e Vovlas, 2007; Ryss et al., 2005).

Diferentemente das espécies de nematoides de galha e de cisto, esse grupo de nematoides não realiza interações complexas com o hospedeiro, não formando sítios de fixação e a alimentação é restrita quase inteiramente ao córtex radicular (Ferraz e Brown, 2016). São nematoides endoparasitas migratórios, portanto, permanecem vermiformes durante todo o ciclo de vida (Thompson et al., 2008). São encontrados em uma ampla variedade de hospedeiros vegetais, incluindo banana,

cereais, café, milho, leguminosas, amendoim e várias frutíferas (Castillo e Vovlas, 2007).

Pratylenchus brachyurus foi descrito parasitando o abacaxi no Havaí (Godfrey, 1929). Está amplamente distribuído pelos trópicos e, no Brasil, é considerado a espécie de *Pratylenchus* de maior importância (Dias-Arieira et al., 2023; Gonzaga, 2006). Também é relatado causando danos em diversas culturas em todo o mundo (Castillo e Vovlas, 2007). Levantamento recente aponta que a espécie está presente em 48% das áreas de soja no Brasil, podendo chegar a 61% no cerrado (BLINK, 2021). O mesmo levantamento prevê que até 2035 esse nematoide pode estar presente em 81% das áreas de soja nessa região.

Espécies de *Pratylenchus* penetram na raiz do hospedeiro para se alimentar e reproduzir, movendo-se livremente dentro do tecido durante todo o seu ciclo o que os caracterizam como endoparasitas migratórios. Consequentemente, passam grande parte do seu ciclo de vida nas raízes e são encontrados no solo quando as plantas hospedeiras estão próximas a senescência, estressadas, doentes ou após a destruição dos restos culturais (Ferraz e Brown, 2016; Soares e Nascimento, 2021).

Pratylenchus tem seis estádios de desenvolvimento, ovo, quatro estágios juvenis e o adulto. A duração do ciclo de vida varia de três a seis semanas, mas isso pode ser influenciado em função das condições ambientais (Ferraz e Brown, 2016). Do desenvolvimento embrionário até o primeiro estágio juvenil (J1) o nematoide permanece ainda dentro do ovo, ao passar para o segundo estágio juvenil (J2), eclode do ovo e se torna infectivo. Todos os estádios juvenis e os adultos de *Pratylenchus* são vermiformes e móveis, e todos os estádios de vida (exceto o ovo e J1) podem infectar as raízes das plantas hospedeiras (Castillo e Vovlas, 2007; Ferraz e Brown, 2016).

O juvenil recém eclodido do segundo estágio é atraído pelos exsudatos liberados pelas raízes da planta hospedeira. Este J2 migra através do solo em direção ao sistema radicular da planta, tendo a capacidade de penetrar em qualquer região da raiz, com preferência pelas regiões de alongamento devido à menor lignificação nessas áreas. Apesar de *Pratylenchus* spp. podem ocasionalmente parasitar outras estruturas das plantas, como tubérculos, rizomas e vagens, eles são principalmente

parasitos de raízes. Embora machos adultos sejam comuns em algumas espécies, em outras, como o caso de *P. brachyurus*, estes são raramente encontrados, levando as fêmeas a se reproduzirem por partenogênese. A oviposição da fêmea ocorre predominantemente no interior da raiz, facilitando o estabelecimento da próxima geração no hospedeiro (Castillo e Vovlas, 2007; Ferraz e Brown, 2016).

Pratylenchus brachyurus possui uma ampla gama de hospedeiros, causando danos significativos em culturas como soja, milho, cana-de-açúcar, algodão, feijão, sorgo, café, entre outras (Ferraz e Brown, 2016). Quanto maior a variedade de hospedeiros de um nematoide, mais desafiador é o seu manejo, devido à dificuldade em encontrar culturas que não sejam hospedeiras para serem usadas em rotação e ou sucessão (Soares e Nascimento, 2021).

Ao entrar na raiz, o nematoide se desloca através das células vegetais, alimentando-se e formando pequenas galerias internas. Esse comportamento migratório resulta na morte de células radiculares, além de abrir portas para a entrada de fungos oportunistas, como *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp. e *Verticillium* spp. (Castillo e Vovlas, 2007; Ferraz e Brown, 2016). A destruição das células vegetais, combinada com a infecção por outros patógenos, resulta na formação de lesões enegrecidas nas raízes, um sintoma característico de *Pratylenchus*. Essas lesões acumuladas causam uma redução no volume radicular da planta, comprometendo sua capacidade de absorver água e nutrientes (Dias-Arieira et al., 2023; Jones e Fosu-Nyarko, 2014).

Os sintomas de infestação de *Pratylenchus* nem sempre são visíveis no dossel das plantas. Plantas de soja infestadas por altas densidades populacionais de *P. brachyurus* sofrem atrasos no desenvolvimento devido aos danos às raízes, além de nanismo, que se manifesta em reboleiras pouco definidas. A soma desses fatores frequentemente resulta em diagnósticos tardios e, conseqüentemente, reduções na produtividade (Soares e Nascimento, 2021).

2.3. Manejo de nematoides

O manejo de nematoides envolve uma série de medidas que precisam ser adotadas para reduzir as populações das espécies presentes no talhão em níveis abaixo do dano econômico (Sikora et al., 2021). Diversos estudos têm sido realizados visando o manejo e redução de perdas por nematoide, sendo consenso que os melhores resultados são obtidos quando há integração entre diferentes ferramentas (Dias-Arieira et al., 2023; Sikora et al., 2021; Soares e Nascimento, 2021).

No Brasil, dentre as principais ferramentas utilizadas no manejo de nematoides, podem destacar o uso de nematicidas biológicos e químicos no tratamento das sementes, práticas culturais como rotação e ou sucessão de culturas e revolvimento do solo, manejo genético com uso de cultivares resistentes ou de baixo fator de reprodução (Chen et al., 2020; Dias-Arieira et al., 2022; Dias-Arieira et al., 2023; Inomoto, 2016). Além disso, o monitoramento frequente das áreas com amostragem é de fundamental importância para o acompanhamento da flutuação populacional das espécies ocorrentes (Soares e Nascimento, 2021).

O controle cultural com plantas antagonistas ou resistentes tem demonstrado grande eficiência no manejo de nematoides da soja no Brasil (Inomoto, 2016), embora ainda exista resistência em sua adoção por parte dos produtores. A dificuldade de utilização desse método é principalmente devida a necessidade de interromper o ciclo da cultura principal para incluir uma cultura menos rentável, a curto prazo, no que se refere a colheita (Soares e Nascimento, 2021). Comparativamente, o uso de cultivares resistentes, quando disponível, tem sido bem aceito pelos produtores, especialmente para o manejo de nematoides de cisto. Nesse caso, o principal entrave é a disponibilidade de fontes de resistência para todas as raças e espécies de nematoides presentes na área, já que no Brasil é comum áreas de soja com a presença de mais de uma espécie de nematoide (Dias et al., 2009; Yan et al., 2018).

Com relação aos nematicidas, o uso de químicos, age de forma a proteger o sistema radicular, especialmente nas primeiras fases de desenvolvimento da planta, melhorando o estabelecimento da cultura em suas fases iniciais de crescimento. Apesar da eficiência de controle protetivo e de choque, os químicos ainda são muito questionados com relação aos danos a organismos não-alvos (Chen et al., 2020). O

controle biológico, por outro lado, é mais sustentável, além de ter se mostrado eficiente na redução populacional das espécies de nematoides ao longo do ciclo e no ganho de produtividade. Essas características têm favorecido a aceitabilidade pelo produtor e, conseqüentemente, impulsionado ainda mais o crescimento desse mercado no Brasil (Soares et al., 2017).

2.3.1. *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis (Bt) é uma bactéria com um ciclo de vida complexo, que tem sido comumente encontrada no solo, água, plantas, cereais armazenados e insetos mortos (Argôlo-Filho e Loguercio, 2013). É classificada como anaeróbia facultativa gram-positivo e tem como principal característica a produção de inclusões proteicas cristalinas durante as fases estacionária de crescimento e de esporulação (Aronson et al., 1986; Bravo et al., 1998; Schnepf et al., 1998). *Bacillus thuringiensis* forma endósporos estáveis e, portanto, pode persistir no ambiente, inclusive em regiões extremas como desertos, sedimentos marinhos, e até mesmo na Antártida onde os insetos são escassos ou ausentes (Baig e Mehnaz, 2010; Prabhakar e Bishop, 2011).

A bactéria *B. thuringiensis* foi descoberta em lagartas de *Bombyx mori* Linnaeus no Japão em 1901 por S. Ishiwatta (Ishiwata, 1901; Berliner, 1915) e oficialmente descrita por Ernst Berliner em 1911 na Thuringia, sendo isolada de lagartas de *Ephestia kuehniella* Zeller (Berliner, 1915). O efeito como bioinseticida foi inicialmente investigado no controle de *Ostrinia nubilalis*. Todavia, em 1927 *B. thuringiensis* foi considerada um risco para a indústria da seda japonesa (Mattes, 1927). A primeira formulação comercial de *B. thuringiensis* ocorreu em 1938, com o lançamento do Sporine® (Polanczyk et al., 2022).

Bacillus thuringiensis pode ser classificado de acordo com propriedades bioquímicas e na composição do antígeno flagelar 'H', que contém 69 sorotipos, 82 sorovares antigênicos e 13 subgrupos antigênicos, demonstrando assim o alto grau de variabilidade genética apresentado por esta espécie (Lecadet et al., 1999; Xu e Côté, 2008). Esta classificação, no entanto, não leva em consideração o perfil de

toxicidade apresentado pelo diversificado conjunto de cepas isoladas em todo o mundo (Argôlo-Filho e Loguercio, 2013).

A atividade tóxica de *B. thuringiensis* é principalmente devida à presença de inclusões proteicas que podem ser distinguidas como cristais de formato distinto sob microscopia de contraste de fase (Bravo et al., 1998). Essas inclusões são compostas por proteínas conhecidas como proteínas cristalinas (proteínas Cry) ou δ endotoxinas e às proteínas secretadas durante a fase vegetativa, chamadas Vip e Sip (Höfte e Whiteley, 1989; Maagd et al., 2001). Muitos genes de proteína Cry foram clonados, sequenciados e denominados genes cry e cyt. Até o momento, mais de 818 sequências de genes cry foram determinadas e classificadas em 78 grupos/famílias de proteínas Cry, 41 genes cyt e 109 genes vip (Crickmore et al., 2021).

Mais de 100 espécies já foram descritas de *B. thuringiensis*, suas características de serotipagem e filogenética já foram amplamente estudadas, principalmente no que se refere às suas propriedades tóxicas a sete diferentes ordens de insetos, além de ácaros, bactérias, fungos, protozoários e nematoides (Erban et al., 2009; Kahn et al., 2021; Li et al., 2021; Monnerat et al., 2007; Polanczyk et al., 2022; Shrestha et al., 2015; Zubairu et al., 2022). Com isso, *B. thuringiensis* se consolidou como o microrganismo de biocontrole mais utilizado mundialmente, compreendendo mais da metade dos biopesticidas do mercado global (Glare et al., 2012; Lacey et al., 2015).

No Brasil, o número de produtos registrados com esse organismo representa 16,8% de todo o mercado de bioinseticidas (Polanczyk et al., 2022). O registro de *B. thuringiensis* voltado para o controle de insetos aumentou 175% nos últimos cinco anos (Agrofit, 2023). No entanto, apenas 5 produtos com *B. thuringiensis* são registrados como bionematicidas, todos levam em sua composição a combinação de ao menos três espécies de *Bacillus*, são elas: *B. thuringiensis*, *B. amyloliquefaciens* e *B. subtilis* (Agrofit, 2023), não sendo claro o papel de cada uma das espécies na atuação contra os nematoides.

Apesar de *B. thuringiensis* ser conhecido por sua capacidade de controlar insetos, suas características possibilitam ainda uma série de outras utilidades (Ibrahim et al., 2010). Ele é encontrado amplamente no solo, mesmo sendo eficaz contra

insetos que não habitam esse meio. Uma teoria sugere que o *B. thuringiensis* pode chegar ao solo por vários meios, mas permanece inativo até encontrar um hospedeiro suscetível (Raymond et al., 2010).

Outras teorias argumentam que o *B. thuringiensis* é um patógeno ambiental adaptado a diversos nichos, incluindo solo, plantas e até possivelmente aos seres humanos (Argôlo-Filho e Loguercio, 2013). Estudos também apontam que a ecologia complexa de *B. thuringiensis* pode ser explicada por sua relação com nematoides. Os nematoides podem desempenhar até três papéis possíveis: como meio de dispersão, fonte de nutrientes após a morte e hospedeiro para infecção (Argôlo-Filho e Loguercio, 2013).

Embora *B. thuringiensis* seja mais conhecido por sua atividade inseticida, sua toxicidade para nematoides também está bem estabelecida. Várias famílias de toxinas Cry já foram reportadas como tendo atividade tóxicas em nematoides, são elas: Cry5, Cry6, Cry13, Cry14, Cry21 e Cry55 (Guo et al., 2008; Hu et al., 2010; Latsenko et al., 2014; latsenko et al., 2014; Kahn et al., 2021; Lenane et al., 2008; Liu et al., 2014a, 2014b; Luo et al., 2013a; Jouzani et al., 2008).

Além dessas proteínas Cry, turingiensina, quitinase (Zhang et al., 2014), e uma metaloproteinase de *B. thuringiensis* também são tóxicas para nematoides (Devidas e Rehberger, 1992; Luo et al., 2013b; Zhang et al., 2014). Genes que codificam fatores nematocidas, incluindo antibióticos (Garsin et al., 2001), enterotoxinas (Zhou et al., 2014), hemolisinas (Cinar et al., 2010) e proteases (Yang et al., 2013), também estão comumente presentes no genoma de *B. thuringiensis* e são principalmente controlados pelo ativador transcricional PlcR (Begley et al., 2009; Murphy et al., 2011). Há também fortes evidências de que *B. thuringiensis* infecta, germina e se replica dentro de nematoides, a exemplo, *Caenorhabditis elegans* (Borgonie et al., 1995; Kho et al., 2011).

Cepas de *B. thuringiensis*, assim como em outras rizobactérias do gênero, também possuem propriedades relacionadas à promoção de crescimento vegetal (Azizoglu, 2019). Dentre as habilidades encontradas em determinadas cepas, tem-se a disponibilidade de nutrientes, por meio da solubilização de fósforo, produção de sideróforos e fixação de nitrogênio. Além disso, podem produzir metabólitos como

ácido indol-3-acético (IAA), 1-aminociclopropano-1-carboxilato-desaminase (ACC-desaminase) que estimulam o crescimento vegetal e reduzem o estresse oxidativo (Azizoglu, 2019; Raddadi et al., 2007). Antibióticos também podem ser produzidos por essas bactérias, favorecendo a supressão de microrganismos patogênicos às plantas (Jouzani et al., 2017; Raddadi et al., 2007). Um diagrama resumindo as propriedades de *B. thuringiensis* pode ser visualizado na Figura 1.

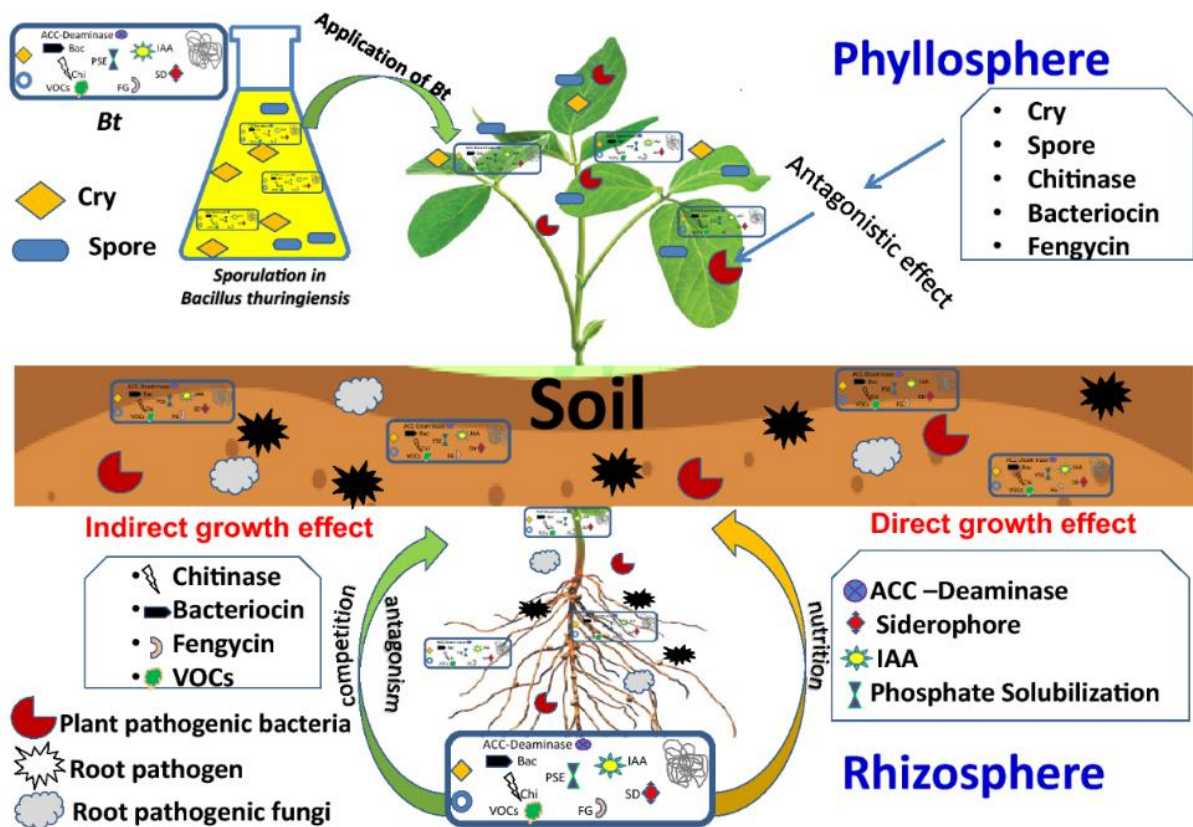


Figura 1. Propriedades conhecidas de biocontrole e promoção do crescimento vegetal de *Bacillus thuringiensis* (Azizoglu, 2019).

3. REFERÊNCIAS

AGROFIT. 2023. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 30 set. 2023.

Almeida AMR, Ferreira LP, Yorinori JT, et al. (2005) Doenças da soja. In.: Kimati H, Amorim L, Rezende JAM (Eds.). **Manual de fitopatologia: doenças das plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo SP: Agronômica Ceres, p. 570–588.

Alves BJR, Boddey RM, Urquiaga S (2003) The success of BNF in soybean in Brazil. **Plant and Soil** 252:1–9. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1024191913296>

Araújo FG, Ferrari RM, Silva J de O, et al. (2019) Life Cycle of *Heterodera glycines* in resistant and susceptible soybean. **Journal of Agricultural Science** 11:507. Disponível em: <https://doi.org/10.5539/jas.v11n2p507>

Argôlo-Filho R, Loguercio L (2013) *Bacillus thuringiensis* is an environmental pathogen and host-specificity has developed as an adaptation to human-generated ecological niches. **Insects** 5:62–91. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/insects5010062>

Aronson AI, Beckman W, Dunn P (1986) *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. **Microbiological Reviews** 50:1–24. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mr.50.1.1-24.1986>

Azizoglu U (2019) *Bacillus thuringiensis* as a biofertilizer and biostimulator: a mini-review of the little-known plant growth-promoting properties of Bt. **Current Microbiology** 76:1379–1385. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01705-9>

Baig DN, Mehnaz S (2010) Determination and distribution of cry-type genes in halophilic *Bacillus thuringiensis* isolates of Arabian Sea sedimentary rocks. **Microbiological Research** 165:376–383. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.08.003>

Barros GSC, Miranda SHG, Osaki M et al., (2019) **Mensuração econômica da incidência de pragas e doenças no Brasil: uma aplicação para as culturas de**

soja, milho e algodão. Piracicaba SP: Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA) v. 1.

Begley M, Cotter PD, HILL C, ROSS RP (2009) Identification of a novel two-peptide lantibiotic, lichenicidin, following rational genome mining for LanM proteins. **Applied and Environmental Microbiology** 75(17):5451–60. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.00730-09>

Berliner E (1915) Über die schlaffsucht der mehlmotenraupe (*Ephestia kühniella* Zell.) und ihren erreger *Bacillus thuringiensis* n. sp. **Zeitschrift für angewandte Entomologie** 2(1):29–56.

Bleve-Zacheo T, Melillo MT, Castagnone-Sereno P (2007) The contribution of biotechnology to root-knot nematode control in tomato plants. **Pest Technology** 1(1):1–16.

BLINK. **Resultados consolidados - nematoides em soja.** 2021. Disponível em: www.blinkstrategies.com. Acesso em: 30 set. 2023.

Bohlmann H (2015) Chapter Two - introductory chapter on the basic biology of cyst nematodes. In: Escobar C, Fenoll C. (org.). **Plant Nematode Interactions.** Academic Press, (Advances in Botanical Research). 73:33–59. *E-book*. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.abr.2014.12.001>

Borgonie G, Van Driessche R, Leyns F, Arnaut G, De Waele D, Coomans A (1995) Germination of *Bacillus thuringiensis* spores in bacteriophagous nematodes (Nematoda: Rhabditida). **Journal of Invertebrate Pathology** 65(1):61–7. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/jipa.1995.1008>.

Bossolani JW, Crusciol CAC, Moretti LG et al. (2022) Improving soil fertility with lime and phosphogypsum enhances soybean yield and physiological characteristics. **Agronomy for Sustainable Development** 42(2):26. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13593-022-00765-9>.

Bradley CA, et al. (2021) Soybean yield loss estimates due to diseases in the United States and Ontario, Canada, from 2015 to 2019. **Plant Health Progress** 22(4):483–495. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PHP-01-21-0013-RS>.

Bravo A, et al. (1998) Characterization of cry genes in a mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. **Applied and Environmental Microbiology** 64(12):4965–4972. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.64.12.4965-4972.1998>.

Castanheira CM, Dias-Arieira CR, Ida EI, Falcão HG, Barros BCB (2021) Influence of *Meloidogyne javanica* parasitism on soybean development and chemical composition. **Chemical and Biological Technologies in Agriculture** 8(1):10. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00209-8>.

Castillo P, Vovlas N (2007) *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. **Nematology Monographs and Perspectives** 6:1–543. Disponível em: <https://doi.org/10.1163/EJ.9789004155640.I-523>.

Chen J, Li QX, Song B (2020) Chemical Nematicides: Recent Research Progress and Outlook. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 68(44):12175–12188. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c02871>.

Cinar HN, Kothary M, Datta AR, Tall BD, Sprando R, Bilecen K, Yildiz F, McCardell B (2010) *Vibrio cholerae* hemolysin is required for lethality, developmental delay, and intestinal vacuolation in *Caenorhabditis elegans*. **PLoS One** 5(7):e11558. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011558>.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira - Grãos**. 12 levantamento ed. Brasília DF:CONAB. 2023. v. 10, Safra 2022/23.

Crickmore N, Berry C, Panneerselvam S, Mishra R, Connor TR, Bonning BC (2021) A structure-based nomenclature for *Bacillus thuringiensis* and other bacteria-derived pesticidal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology** 186:107438. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2020.107438>

Cunha RP, Maia GL, Rodacki MEP, Silva GS da, Meyer MC (2008) Ciclo de vida de *Heterodera glycines* raça 9 em soja no Estado do Maranhão. **Summa Phytopathologica** 34(3):262–264. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-54052008000300012>

Devidas P, Rehberger LA (1992) The effects of exotoxin (Thuringiensin) from *Bacillus thuringiensis* on *Meloidogyne incognita* and *Caenorhabditis elegans*. **Plant and Soil** 145(1):115–120. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00009547>

Dias WP, Garcia A, Silva JFV, Carneiro GES (2010) **Nematóides em Soja: Identificação e Controle**. Circular Técnica, Londrina - PR, 76:1–8.

Dias WP, Silva JFV, Kiihl RAS, Hiromoto DM, Abdelnoor RV (1998) Quebra da resistência da cv. Hartwig por população de campo do nematóide de cisto da soja (*Heterodera glycines*). **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 33(6):971–974. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/4903>. Acesso em: 30 set. 2023

Dias WP, Silva J, Garcia A, Carneiro G (2004) Biologia e controle do nematoide de cisto da soja (*Heterodera glycines* Ichinohe). In: Saraiva OF (org.) **Resultados de Pesquisa da Embrapa Soja-2003: Ecofisiologia, biologia molecular e nematoides**. Embrapa Soja, Londrina, v. 246, p. 1–48. E-book. Disponível em: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/464152/1/Documentos246.pdf>. Acesso em: 30 set. 2023

Dias WP, Silva JFV, Carneiro GES, Garcia A, Arias CAA (2009) Soybean cyst nematode: biology and management through genetic resistance. **Nematologia Brasileira** 33(1):1–16.

Dias-Arieira CR, Araújo FG de, Machado ACZ (2023) **Manejo de Nematoides em Grandes Culturas**. 1. ed. NPCT, Piracicaba, v. 1.

Dias-Arieira CR, Santana-Gomes SM, Miamoto A, Machado ACZ (2022) Manejo biológico de nematoides. In: Meyer MC, de Freitas Bueno A, Mazar SM, da Silva JC (org.) **Bioinsumos na cultura da soja**. Embrapa Soja ed. Embrapa, v. 1, p. 345–358

Dong LQ, Zhang KQ (2006) Microbial control of plant-parasitic nematodes: a five-party interaction. **Plant and Soil** 288(1):31–45. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9009-3>

EMBRAPA. **História da soja**. 2023. Disponível em: <https://www.embrapa.br/web/portal/soja/cultivos/soja1/historia>. Acesso em: 29 set. 2023.

Erban T, Nesvorna M, Erbanova M, Hubert J (2009) *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* control of synanthropic mites (Acari: Acaridida) under laboratory conditions. **Experimental and Applied Acarology** 49(4):339–346. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S10493-009-9265-Z/TABLES/2>

Evans K, Rowe JA (1998) Distribution and economic importance. In: Sharma SB (org.). **The Cyst Nematodes**. Dordrecht NL: Kluwer Academic Publishers, p. 1–30.

FAO (2023) FAOSTAT - Food and agriculture organization corporate statistical database - production indices - **Crops and livestock products**. Disponível em: <https://www.fao.org/faostat/en/#data>

Fernandes RDM, De Melo DM, Elli EF, Battisti R (2022) Climate change impacts on rainfed and irrigated soybean yield in Brazil's new agricultural frontier. **Theoretical and Applied Climatology** 147(1–2):803–816. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S00704-021-03865-W/FIGURES/6>. Acesso em: 28 set. 2023.

Ferraz LCCB, Brown DJF (2016) **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Edit.

Ferraz S, Freitas LD, Lopes EA, Dias-Arieira CR (2010) **Manejo sustentável de fitonematoides**. Viçosa: UFV.

Friend JD, Lima R da S (2011) Impact of Transportation Policies on Competitiveness of Brazilian and U.S. Soybeans. **Transportation research record: journal of the transportation research board** 2238(1):61–67. Disponível em: <https://doi.org/10.3141/2238-08>

Garsin DA, Sifri CD, Mylonakis E, Qin X, Singh KV, Murray BE, Calderwood SB, Ausubel FM (2001) A simple model host for identifying Gram-positive virulence factors.

Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America 98(19):10892–7. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.191378698>

Glare T, Caradus J, Gelernter W, Jackson T, Keyhani N, Köhl J, Marrone P, Morin L, Stewart A (2012) Have biopesticides come of age? **Trends in biotechnology** 30(5):250–8. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.01.003>

Golden AM, Epps JM, Riggs RD, Duclos LA, Fox JA, Bernard RL (1970) Terminology and identity of infraspecific forms of the soybean cyst nematode *Heterodera glycines*. **Plant Disease Reporter** 54:544–546.

Gonzaga V (2006) **Caracterização morfológica, morfométrica e multiplicação *in vitro* das seis espécies mais comuns de *Pratylenchus* Filipjev, 1936 que ocorrem no Brasil**. Tese - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Jaboticabal.

Goto DB, Miyazawa H, Mar JC, Sato M (2013) Not to be suppressed? Rethinking the host response at a root-parasite interface. **Plant Science** 213:9–17. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2013.08.004>

Guo S, Liu M, Peng D, Ji S, Wang P, Yu Z, Sun M (2008) New strategy for isolating novel nematocidal crystal protein genes from *Bacillus thuringiensis* strain YBT-1518. **Applied and environmental microbiology** 74(22):6997–7001. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.01346-08>. Acesso em: 30 set. 2023.

Gupta A, Rico-Medina A, Caño-Delgado AI (2020) The physiology of plant responses to drought. **Science** 368(6488):266–269. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.aaz7614>

Höfte H, Whiteley HR (1989) Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. **Microbiological Reviews** 53(2):242–255. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/mr.53.2.242-255.1989>

Hori S (1915) Phytopathological notes. Sick soil of soybean caused by a nematode (In Japanese). **Journal of Plant Protect**, p. 1–927.

Hu Y, Platzer EG, Bellier A, Aroian RV (2010) Discovery of a highly synergistic anthelmintic combination that shows mutual hypersusceptibility. **Proceedings of the**

national academy of sciences of the United States of America 107(13):5955–60. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0912327107>

Iatsenko I, Boichenko I, Sommer RJ (2014) *Bacillus thuringiensis* DB27 produces two novel protoxins, Cry21Fa1 and Cry21Ha1, which act synergistically against nematodes. **Applied and environmental microbiology** 80(10):3266–75. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.00464-14>

Iatsenko I, Nikolov A, Sommer RJ (2014) Identification of distinct *Bacillus thuringiensis* 4A4 nematicidal factors using the model nematodes *Pristionchus pacificus* and *Caenorhabditis elegans*. **Toxins** 6(7):2050–63. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/toxins6072050>

Ibrahim MA, Griko N, Junker M, Bulla LA (2010) *Bacillus thuringiensis*. **Bioengineered Bugs** 1(1):31–50. Disponível em: <https://doi.org/10.4161/BBUG.1.1.10519>

Inomoto MM (2016) Manejo cultural de nematoides. In: Galbieri R, Belot JL (org.). **Nematoides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: biologia e medidas de controle**. Cuiabá Mt: IMAmt - Instituto Mato-grossense do Algodão, v. 3, p. 256–286.

Inomoto MM, Asmus GL (2010) Host Status of graminaceous cover crops for *Pratylenchus brachyurus*. **Plant Disease** 94(8):1022–1025. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-8-1022>

Ishikawa T (1916) Principal insect pests and diseases of plants occurring during the fourth year of Taisho. II. Occurrence of “Moon night” and wilt disease of soybean (In Japanese). **Journal of Plant Protect** 3:1–197.

Ito S (1921) Studies on “Yellow dwarf” disease of soybean (In Japanese). **Hokkaido National Agricultural Experiment Station** 11:1–47.

Jeong S-C, Moon J-K, Park S-K, et al., (2019) Genetic diversity patterns and domestication origin of soybean. **Theoretical and Applied Genetics** 132(4):1179–1193. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00122-018-3271-7>

Jones JT, Haegeman A, Danchin EGJ, et al. (2013) Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular plant pathology** 14(9):946–61. Disponible em: <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>

Jones MGK, Fosu-Nyarko J (2014) Molecular biology of root lesion nematodes (*Pratylenchus* spp.) and their interaction with host plants. **Annals of Applied Biology** 164(2):163–181. Disponible em: <https://doi.org/10.1111/aab.12105>

Jones MGK, Goto DB (2011) Root-knot nematodes and giant cells. In: Jones J, Gheysen G, Fenoll C (org.). **Genomics and molecular genetics of plant-nematode interactions**. Springer ed. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 83–100. Disponible em: https://doi.org/10.1007/978-94-007-0434-3_5

Jouzani GS, Valijanian E, Sharafi R (2017) *Bacillus thuringiensis*: a successful insecticide with new environmental features and tidings. **Applied microbiology and biotechnology** 101(7):2691–2711. Disponible em: <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8175-y>

Kahn TW, Duck NB, McCarville MT, Schouten LC, Schweri K, Zaitseva J, Daum J (2021) A *Bacillus thuringiensis* Cry protein controls soybean cyst nematode in transgenic soybean plants. **Nature Communications** 12(1):1–12. Disponible em: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23743-3>

Kho MF, Bellier A, Balasubramani V, Hu Y, Hsu W, Nielsen-Leroux C, McGillivray SM, Nizet V, Aroian RV (2011) The pore-forming protein Cry5B elicits the pathogenicity of *Bacillus* sp. against *Caenorhabditis elegans*. **PloS One** 6(12):e29122. Disponible em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029122>

Klink VP, Matthews BF (2009) Emerging approaches to broaden resistance of soybean to soybean cyst nematode as supported by gene expression studies. **Plant Physiology** 151(3):1017–1022. Disponible em: <https://doi.org/10.1104/pp.109.144006>

Lacey LA, Grzywacz D, Shapiro-Ilan DI, Frutos R, Brownbridge M, Goettel MS (2015) Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology** 132:1–41. Disponible em: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009>

- Lahlali R, Ezrari S, Radouane N, Kenfaoui J, Esmaeel Q, El Hamss H, Belabess Z, Barka EA (2022) Biological control of plant pathogens: A global perspective. **Microorganisms** 10(3):596. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596>
- Lecadet M-M, Frachon E, Dumanoir VC, Ripouteau H, Hamon S, Laurent P, Thiéry I (1999) Updating the H-antigen classification of *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Applied Microbiology** 86(4):660–672. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.1999.00710.x>
- Lenane IJ, Bagnall NH, Josh PF, Pearson RD, Akhurst RJ, Kotze AC (2008) A pair of adjacent genes, cry5Ad and orf2-5Ad, encode the typical N- and C-terminal regions of a Cry5A delta-endotoxin as two separate proteins in *Bacillus thuringiensis* strain L366. **FEMS microbiology letters** 278(1):115–20. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00987.x>
- Li E-T, Zhang S, Li K-B, Nyamwasaa I, Li J-Q, Li X-F, Qin J-H, Yin J (2021) Efficacy of entomopathogenic nematode and *Bacillus thuringiensis* combinations against *Holotrichia parallela* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae. **Biological Control** 152:104469. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104469>
- Lima RD, Ferraz S, Santos JM (1992) Ocorrência de *Heterodera* sp., em soja no Triângulo Mineiro. **Nematologia Brasileira** 16(1/2):101–102.
- Liu X, Zhou R, Fu G, Zhang W, Min Y, Tian Y, Huang D, Wang K, Wan Z, Yao J, Yang Z (2014a) Draft genome sequence of *Bacillus thuringiensis* NBIN-866 with high nematocidal activity. **Genome Announcements** 2(3):e00429–e00514. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/genomeA.00429-14>
- Liu Y, Ye W, Zheng J, Fang L, Peng D, Ruan L, Sun M (2014) High-quality draft genome sequence of nematocidal *Bacillus thuringiensis* Sbt003. **Standards in genomic sciences** 9(3):624–31. Disponível em: <https://doi.org/10.4056/sigs.4738557>
- Lordello AIL, Lordellho RR, Quaggio JA (1992) Ocorrência do nematoide de cistos da soja (*Heterodera glycines*) no Brasil. **Nematologia Brasileira** 67(3):223–225.
- Lordello LGE (1988) **Nematoides das plantas cultivadas**. 6. ed. São Paulo: Nobel.

- Luo H, Xiong J, Zhou Q, Xia L, Yu Z (2013) The effects of *Bacillus thuringiensis* Cry6A on the survival, growth, reproduction, locomotion, and behavioral response of *Caenorhabditis elegans*. **Applied microbiology and biotechnology** 97(23):10135–42. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5249-3>
- Luo X, Chen L, Huang Q, Zheng J, Zhou W, Peng D, Ruan L, Sun M (2013) *Bacillus thuringiensis* metalloproteinase Bmp1 functions as a nematicidal virulence factor. **Applied and environmental microbiology** 79(2):460–8. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.02551-12>
- Maagd RA, Bravo A, Crickmore N (2001) How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. **Trends in genetics : TIG** 17(4):193–9. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0168-9525\(01\)02237-5](https://doi.org/10.1016/s0168-9525(01)02237-5)
- MAPA (2023) **Projeções do agronegócio Brasil 2022/23 a 2032/33** - Projeções de longo prazo. 1. ed. Brasília DF: Ministério da agricultura e pecuária secretaria de política agrícola.
- Mattes O (1927) **Parasitare krankheiten der mehlmottenlarven und versuche uber ihre verwendbarkeit als biologisches bekampfungsmittel**. Marburg: Sitzber. Ges.Beforder. Ges. Naturw. 62.
- Meidani C, Ntalli NG, Giannoutsou E, Adamakis I-D S (2019) Cell wall modifications in giant cells induced by the plant parasitic nematode *Meloidogyne incognita* in wild-type (Col-0) and the *fra2 Arabidopsis thaliana* Katanin mutant. **International journal of molecular sciences** 20(21). Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms20215465>
- Miranda DM, Favoreto L, Ribeiro NR (2011) Nematoides: um desafio constante. In: Siqueri F, Caju J, Moreira M (org.). **Boletim de pesquisa de soja**. Rondonópolis MT: Funtação MT, p. 400–410.
- Moens M, Perry RN, Jones JT (2018) Cyst Nematodes – Life cycle and economic importance. In: Perry RN, Moens M, Jones JT (org.). **Cyst Nematodes**. Oxfordshire, UK: CABI, v. 1, p. 1–26.
- Monnerat RG et al. (2007) Screening of Brazilian *Bacillus thuringiensis* isolates active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatalis*.

Biological Control 41(3):291–295. Disponível em:
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.11.008>

Monteiro AR, Morais SRAC (1992) Ocorrência do nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines* Ichinohe, 1952, prejudicando a cultura no Mato Grosso do Sul. **Nematologia Brasileira** 16(1/2):101–101.

Murphy K, O'Sullivan O, Rea MC, Cotter PD, Ross RP, Hill C (2011) Genome mining for radical SAM protein determinants reveals multiple saccharibiotic-like gene clusters. **PloS One** 6(7):e20852. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020852>.

Nascimento DD, Jaime DTS, Silva GÉ, Silva AR, Alves GCS (2016) The role of *Crambe abyssinica* in the control of *Heterodera glycines* (Thylenchida: Heteroidae). *African Journal of Agricultural Research* 11(25):2245–2249. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/AJAR2016.10947>

Nascimento DD, Vidal RL, Pimenta AA, Costa MG, Soares PLMC (2020) Crotalaria and millet as alternative controls of root-knot nematodes infecting okra. **Bioscience Journal** 36(3):8. Disponível em: <https://doi.org/10.14393/BJ-v36n3a2020-42248>

Niblack TL, Arelli PR, Noel GR, Opperman CH, Orf JH, Schmitt DP, Shannon JG, Tylka GL (2002) A revised classification scheme for genetically diverse populations of *Heterodera glycines*. **Journal of nematology** 34(4):279–88.

Parfitt J, Barthel M, Macnaughton S (2010) Food waste within food supply chains: Quantification and potential for change to 2050. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences** 365(1554):3065–3081. Disponível em: <https://doi.org/10.1098/RSTB.2010.0126>

Perry RN, Moens M, Jones JT (2018) **Cyst Nematodes**. Jones, John T. ed. London UK: CAB, v. 1.

Polanczyk RA, Nascimento J do, Freitas MM, Nascimento DD (2022) Manejo de pragas com bactérias entomopatogênicas. In: Meyer MC, Bueno AF, Mazar SM, Silva JC da (org.). **Bioinsumos na Cultura da Soja**. Brasília, DF: Embrapa, v. 1, p. 361–376. E-book. Disponível em:

https://www.researchgate.net/publication/360814291_Manejo_de_pragas_com_bacterias_entomopatogenicas

Prabhakar A, Bishop AH (2011) Invertebrate pathogenicity and toxin-producing potential of strains of **Bacillus thuringiensis** endemic to Antarctica. **Journal of Invertebrate Pathology** 107(2):132–138. Disponible em: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2011.03.008>

Raddadi N, Cherif A, Ouzari H, Marzorati M, Brusetti L, Boudabous A, Daffonchio D (2007) *Bacillus thuringiensis* beyond insect biocontrol: plant growth promotion and biosafety of polyvalent strains. **Annals of Microbiology** 57(4):481–494. Disponible em: <https://doi.org/10.1007/BF03175344>

Raymond B, Johnston PR, Nielsen-LeRoux C, Lereclus D, Crickmore N (2010) *Bacillus thuringiensis*: an impotent pathogen? **Trends in microbiology** 18(5):189–94. Disponible em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2010.02.006>

Rani L, Thapa K, Kanojia N, Sharma N, Singh S, Grewal AS, Srivastav AL, Kaushal J (2021) An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. **Journal of Cleaner Production** 283:124657. Disponible em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>

Reis AR dos, Rafael V (2011) Weed competition in the soybean crop management in Brazil. In: Tzi-Bun Ng (org.). **Soybean - Applications and Technology**. London UK: IntechOpen, p. 185–210.

Rellán-Álvarez R, Lobet G, Dinneny JR (2016) Environmental control of root system biology. **Annual Review of Plant Biology** 67(1):619–642. Disponible em: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043015-111848>

Riga E (2011) The effects of *Brassica green* manures on plant parasitic and free living nematodes used in combination with reduced rates of synthetic nematicides. **Journal of nematology** 43(2):119–21.

Riggs RD, Hamblen ML, Rakes L (1981) Infra-species variation in reactions to hosts in *Heterodera glycines* population. **Journal of nematology** 13(2):171–9.

Rodiuc N, Vieira P, Banora MY, de Almeida Engler J (2014) On the track of transfer cell formation by specialized plant-parasitic nematodes. **Frontiers in Plant Science** 5. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00160>

Ruan L, Crickmore N, Peng D, Sun M (2015) Are nematodes a missing link in the confounded ecology of the entomopathogen *Bacillus thuringiensis*? **Trends in Microbiology** 23(6):341–346. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.02.011>.

Ryss A, Boström S, Sohlenius B (2005) Tylenchid nematodes found on the nunatak Basen, East Antarctica. **Annales Zoologici** 55(3):315–324.

Saath KC de O, Fachinello AL (2018) Crescimento da demanda mundial de alimentos e restrições do fator terra no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural** 56(2):195–212. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1234-56781806-94790560201>

Jouzani GS, Seifinejad A, Saeedizadeh A, Nazarian A, Yousefloo M, Soheilvand S, Mousivand M, Jahangiri R, Yazdani M, Amiri RM, Akbari S (2008) Molecular detection of nematocidal crystalliferous *Bacillus thuringiensis* strains of Iran and evaluation of their toxicity on free-living and plant-parasitic nematodes. **Canadian journal of microbiology** 54(10):812–22. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/w08-074>.

Schnepf E, Crickmore N, Van Rie J, Lereclus D, Baum J, Feitelson J, Zeigler DR, Dean DH (1998) *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. **Microbiology and Molecular Biology Reviews** 62(3):775–806. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/MMBR.62.3.775-806.1998>

Shrestha A, Sultana R, Chae J-C, Kim K, Lee K-J (2015) *Bacillus thuringiensis* C25 which is rich in cell wall degrading enzymes efficiently controls lettuce drop caused by *Sclerotinia minor*. **European Journal of Plant Pathology** 142(3):577–589. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0636-5>

Sikandar A, Zhang MY, Wang YY, Zhu XF, Liu XY, Fan HY, Xuan YH, Chen LJ, Duan YX (2020) Review article: *Meloidogyne incognita* (root-knot nematode) a risk to agriculture. **Applied Ecology and Environmental Research** 18(1):1679–1690. Disponível em: https://doi.org/10.15666/aeer/1801_16791690

Sikora RA, Desaeger J, Molendijk L (2021) **Integrated nematode management: state-of-the-art and visions for the future**. Wallingford: CABI. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/9781789247541.0000>

Soares PLM, Nascimento DD (2021) Integrated nematode management of root lesion and root-knot nematodes in soybean in Brazil. In: **Integrated nematode management: state-of-the-art and visions for the future**. Wallingford: CABI, p. 103–110. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/9781789247541.0015>

Soares PLM, Nascimento DD, Vidal RL, Vizentini LR (2017) Controle biológico de nematoides. In: Baldin EL, Kronka AZ, Silva IF da (org.). **Inovações em manejo fitossanitário**. 1. ed. Botucatu: FEPAF, p. 167–189.

Subbotin SA, Palomares Rius JE, Castillo P (2021) **Systematics of Root-knot Nematodes (Nematoda: Meloidogynidae)**. The Netherlands: BRILL, v. 14. Disponível em: <https://doi.org/10.1163/9789004387584>

Thompson JP, Owen KJ, Stirling GR, Bell MJ (2008) Root-lesion nematodes (*Pratylenchus thornei* and *P. neglectus*): a review of recent progress in managing a significant pest of grain crops in northern Australia. **Australasian Plant Pathology** 37(3):235. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/AP08021>

United Nations (2023) **Transforming our world: the 2030 Agenda for Sustainable Development**. Disponível em: <https://sdgs.un.org/goals>. Acesso em: 30 set. 2023.

Xu D, Côté J-C (2008) Sequence diversity of *Bacillus thuringiensis* flagellin (H Antigen) protein at the intra-H serotype level. **Applied and Environmental Microbiology** 74(17):5524–5532. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.00951-08>

Yan G, Baidoo R, Yan G, Baidoo R (2018) Current research status of *Heterodera glycines* resistance and its implication on soybean breeding. **Engineering** 4(4):534–541. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.07.009>

Yang J, Liang L, Li J, Zhang K-Q (2013) Nematicidal enzymes from microorganisms and their applications. **Applied microbiology and biotechnology** 97(16):7081–95. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5045-0>.

Zhang L, Yu J, Xie Y, Lin H, Huang Z, Xu L, Gelbic I, Guan X (2014) Biological activity of *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) chitinase against *Caenorhabditis elegans* (Rhabditida: Rhabditidae). **Journal of economic entomology** 107(2):551–8. Disponível em: <https://doi.org/10.1603/ec13201>.

Zhou M, Yu H, Yin X, Sabour PM, Chen W, Gong J (2014) *Lactobacillus zeae* protects *Caenorhabditis elegans* from enterotoxigenic *Escherichia coli*-caused death by inhibiting enterotoxin gene expression of the pathogen. **PloS one** 9(2):e89004. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089004>.

Zubairu M, Zubairu A, Rabiou KM, Abdu F, Uthman HA (2022) Evaluation of *Bacillus thuringiensis* from different habitats for lethality against larvae of some species of mosquito. **Fudma Journal of Sciences** 5(4):76–80. Disponível em: <https://doi.org/10.33003/fjs-2021-0504-783>

CAPÍTULO 2 - SELEÇÃO DE *Bacillus thuringiensis* COMO AGENTE DE CONTROLE BIOLÓGICO DE *Meloidogyne javanica* E PROMOTOR DE CRESCIMENTO DE SOJA

RESUMO - A soja é a cultura mais plantada no Brasil e a principal fonte de proteína vegetal no mundo. Embora o crescimento tecnológico tenha possibilitado maior produtividade à cultura, muito ainda se perde devido a problemas fitossanitários, como os nematoides. Os nematoides de galha são o grupo de maior importância para a agricultura, também, causando sérios danos à soja. A demanda por métodos de controle mais eficientes e sustentáveis, tem levado a busca por novos organismos de biocontrole. *Bacillus thuringiensis* é conhecido por seu sucesso no controle de pragas, porém, ainda é pouco explorado no controle de nematoides. O objetivo desse trabalho foi selecionar isolados de *B. thuringiensis* com potencial para serem utilizados como bionematicidas no controle de *Meloidogyne javanica* e na promoção de crescimento de soja. Oitenta e quatro isolados de *B. thuringiensis* foram avaliados quanto a capacidade de causar a mortalidade de *M. javanica in vitro*, supressão da referida espécie e promoção de crescimento na soja. Não houve correlação entre os dados de mortalidade obtidos *in vitro* e a supressão de nematoide na cultura. Entretanto, os resultados da avaliação *in vitro* dos oitenta e quatro isolados indicaram que ao menos 13 isolados demonstraram uma capacidade significativamente superior aos demais de causar a mortalidade de *M. javanica*. Quatro deles também se destacaram na supressão de *M. javanica* e promoção do crescimento de soja: *B. thuringiensis dendrolimus* T04 A001, *B. thuringiensis indiana*, *B. thuringiensis monterrey* e *B. thuringiensis* Br 52 – solo, diferindo-se da testemunha e padrões comerciais. Os tratamentos com os isolados *B. thuringiensis dendrolimus* T04 A001, *B. thuringiensis monterrey* e *B. thuringiensis* Br 52 – solo suprimiram em média 53,2% e 62,5% a população de *M. javanica* nas raízes e a população *M. javanica/g* de raízes, além de promoverem o crescimento de soja.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis*, nematoides de galha, controle biológico, promoção de crescimento de planta, seleção.

SELECTION OF *Bacillus thuringiensis* ISOLATES AS A BIOLOGICAL CONTROL AGENT FOR *Meloidogyne javanica* AND SOYBEAN-GROWTH PROMOTER

ABSTRACT - Soybean is the most widely planted crop in Brazil and the primary source of plant-based protein worldwide. While technological advancements have led to increased crop productivity, substantial losses still occur due to phytosanitary issues, such as nematodes. Root-knot nematodes are particularly detrimental to soybean agriculture. The demand for more efficient and sustainable control methods has spurred the exploration of new biocontrol organisms. *Bacillus thuringiensis* is renowned for its success in pest control, yet its potential for nematode control remains relatively unexplored. This study aimed to select *B. thuringiensis* isolates with the potential to be used as bionematicides for the control of *Meloidogyne javanica* and the promotion of soybean growth. Eighty-four *B. thuringiensis* isolates were evaluated for their ability to cause mortality in *M. javanica* *in vitro*, suppression of this species, and soybean-growth promotion. There was no correlation between the *in vitro* mortality data and nematode suppression in the field. However, the *in vitro* assessment of the eighty-four isolates indicated that at least 13 isolates demonstrated significantly superior capabilities in causing *M. javanica* mortality. Four of these isolates also excelled in both *M. javanica* suppression and soybean growth promotion: *B. thuringiensis dendrolimus* T04 A001, *B. thuringiensis indiana*, *B. thuringiensis monterrey*, and *B. thuringiensis* Br 52 – soil, distinguishing themselves from the control and commercial standards. Treatments with isolates *B. thuringiensis dendrolimus* T04 A001, *B. thuringiensis monterrey*, and *B. thuringiensis* Br 52 – soil suppressed, on average, 53.2% and 62.5% of the *M. javanica* population in the roots and the *M. javanica*/g of roots population, while also promoting soybean growth.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, root-knot nematodes, biological control, plant growth promotion, screening.

1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma área semeada de soja estimada em 41,4 milhões de hectares, correspondendo a cerca de 35,8% da área total de grãos cultivados no país. Essa área confere ao Brasil a posição de maior produtor e maior exportador de soja do mundo (CONAB, 2022). Apesar dos recordes de produção, tem-se notado pouco incremento na produtividade média brasileira, mesmo com o progresso no desenvolvimento tecnológico. Vários fatores limitam a produtividade da soja, incluindo as doenças e, principalmente, as ocasionadas por nematoides, que tem se agravado devido ao monocultivo.

Os nematoides de galha, *Meloidogyne* spp., são considerados os nematoides de maior importância para agricultura mundial (Jones et al., 2013). Dentre as espécies de maior relevância para a soja e outras culturas no Brasil, pode-se destacar *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*, sendo consideradas as espécies de maior impacto no sistema de cultivo de soja, devido a ampla gama de hospedeiros e severidade dos danos causados as plantas (Soares e Nascimento, 2021).

Dentre os métodos utilizados no manejo de nematoides, o controle biológico por meio do uso de microrganismos antagônicos e de predadores, vem ganhando espaço em meio as ferramentas disponíveis (Abd-Elgawad e Askary, 2018; Nascimento et al., 2022; Soares et al., 2017). Por serem habitantes do solo, os fitonematoídes estão sujeitos ao antagonismo por bactérias e fungos nativos, o que sugere a possibilidade de utilização desses microrganismos no controle de fitonematoídes (Soares et al., 2017).

Nas últimas décadas, muitos microrganismos foram amplamente estudados e mostraram grande potencial para o controle biológico de nematoides. Mais de 700 espécies de fungos nematófagos e uma grande variedade de bactérias antagônicas, especialmente as do gênero *Bacillus* já foram relatadas como potenciais agentes bionemáticos (Askary e Martinelli, 2015).

Diferentes trabalhos têm mostrado a eficiência de espécies de *Bacillus* no controle de nematoides, bem como na promoção de crescimento de plantas de diversas espécies, incluindo a soja (Nascimento et al., 2022; Xiang et al., 2018). Características como, formação de endósporos, antagonismo, produção de enzimas

líticas, produção de sideróforos, solubilização de fósforo e fixação de nutrientes, tornam essas bactérias excelentes candidatas para a formulação de bioprodutos (Castillo et al., 2013; Xiang et al., 2018; Yu et al., 2015).

Dentre esse grupo de bactérias, *Bacillus thuringiensis* (Bt) tem sido amplamente estudado devido ao sucesso no controle de pragas, especialmente de insetos das ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera (Glick, 2020; Polanczyk et al., 2022). A eficácia no biocontrole dos insetos se dá pela produção de uma gama de proteínas, especialmente Cry e Vip, que são tóxicas a esses grupos (Adang et al., 2014). Trabalhos também demonstraram a eficiência de proteínas Cry de Bt na mortalidade de nematoides como no de vida livre *Caenorhabditis elegans* (Shi et al., 2020) e em nematoides parasitos de plantas como *Meloidogyne* spp. (Ali et al., 2017; Yu et al., 2015; Zhang et al., 2012). Além disso, diversas propriedades relacionadas a capacidade de promoção de crescimento já foram relacionadas a *B. thuringiensis* (Azizoglu, 2019).

A grande diversidade genética de *B. thuringiensis* faz com que cepas distintas apresentem diferentes características, Interferindo em sua interação com as plantas e nematoides (Wellman-Desbiens et al., 2011). Portanto, a busca por cepas com características desejáveis para o manejo de nematoides se torna constante. *Meloidogyne javanica* é um dos principais nematoides da soja, e são escassos os estudos sobre o uso de *B. thuringiensis* para o seu controle. Nesse contexto, selecionar cepas de *B. thuringiensis* que apresentem atividade nematicidas, bem como, promovam crescimento da soja é fundamental para o desenvolvimento de novas alternativas de manejo.

Esses estudos possibilitam a compreensão do modo de ação em fitonematoides, em relação ao desenvolvimento de tecnologias de controle, tais como descobrimento de novas moléculas nematicidas, criação de bionematicidas e desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas resistentes aos nematoides.

2. OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho foi selecionar isolados de *B. thuringiensis* com potencial para serem utilizados como bionemáticos no controle de *M. javanica* e na promoção de crescimento da soja.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no período de setembro de 2020 a maio de 2021, no Laboratório de Nematologia (LabNema), no Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV - Unesp), Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil (21°14'27.8"S 48°17'20.1"W). Para os experimentos conduzidos em condições de casa de vegetação, a temperatura média no período foi: máxima de 30,0 °C; mínima de 19,6 °C; média de 24,5 °C.

3.1. Origem e identificação da população de *Meloidogyne javanica*

A população de *M. javanica* foi obtida de raízes de quiabeiro, naturalmente infectadas, no município de Piacatu — SP. A espécie de *M. javanica* foi confirmada com base nos caracteres morfológicos da região perineal de fêmeas (Netscher e Taylor, 1974), da região labial de machos (Eisenback e Hirschmann, 1981) e no fenótipo isoenzimático de esterase (Esbenshade e Triantaphyllou, 1985).

A análise bioquímica retornou um perfil enzimático de esterase de três bandas, sendo menor a distância entre a banda intermediária e a banda com maior migração do que a distância em relação à banda com menor migração (Figura 1 A). Quanto as análises morfológicas, foram estudadas as características morfológicas da região perineal das fêmeas e da região labial dos machos. A região perineal das fêmeas foi caracterizada por estriações finas que davam origem a um arco dorsal baixo e trapezoidal. As linhas do campo lateral apresentavam características marcantes e distintas, interrompendo as estrias (Figura 1 B). A região labial dos machos, por sua vez, era livre de estriações e compostas por uma placa labial convexa. Além disso, os nódulos basais do estilete mais largos do que altos e a distância entre a glândula

dorsal esofagiana e a base dos nódulos basais <math>< \frac{1}{4}</math> do comprimento do estilete (Figura 1 C).

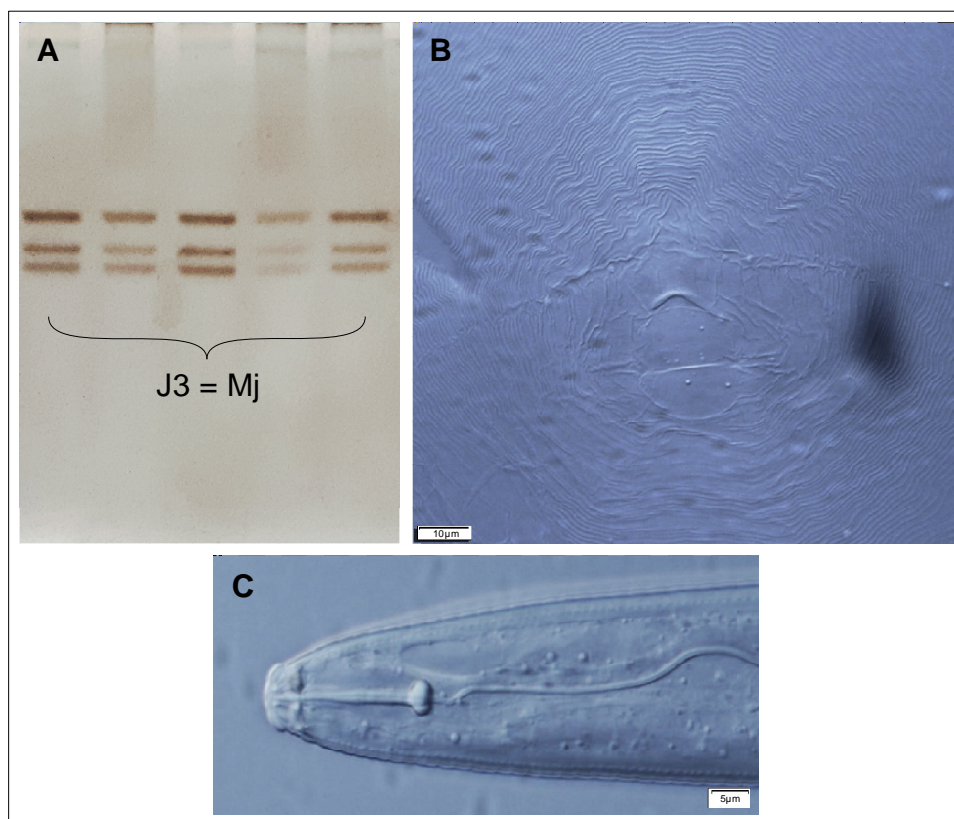


Figura 1. Características taxonômicas da população de *Meloidogyne javanica* utilizada nos ensaios. A, perfil isoenzimático de esterase com padrão fenotípico J3. B, região perineal de fêmea e C, região labial de macho de *M. javanica*.

Os caracteres morfológicos da região perineal das fêmeas e da região labial dos machos, foram compatíveis aos originalmente descritos para *M. javanica* (Chitwood, 1949). O perfil isoenzimático de esterase apresentou o fenótipo J3, típico de *M. javanica* (Esbenshade e Triantaphyllou, 1985).

A população foi inoculada e mantida em plantas de tomateiro ‘Santa Cruz Kada’ e quiabeiro ‘Santa Cruz 47’ cultivados em casa de vegetação do LabNema, de onde foram obtidas as subpopulações para utilização nos experimentos. Os nematoides foram extraídos das raízes conforme a metodologia proposta por Hussey e Baker

(1973), modificada por Boneti e Ferraz (1981). A população de *M. javanica* foi estimada com o auxílio de câmara de Peters sob microscópio óptico.

3.2. Origem e cultivo dos isolados de *Bacillus thuringiensis*

Foram avaliados 84 isolados de *B. thuringiensis*. Todos os isolados bacterianos utilizados no trabalho foram obtidos da coleção de microrganismos do Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada (LGBBA), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV - Unesp), Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil.

Os isolados foram recuperados da cultura estoque e cultivados em placa de Petri com meio de cultura Luria Bertani — LB acrescido de sais (sólido), apresentando a seguinte composição: glicose (1 g), caldo nutritivo (8 g), extrato de levedura (5 g), triptona (10 g), NaCl (5 g), MgSO₄ (0,3 g), FeSO₄ (0,02 g), ZnSO₄ (0,02 g), MnSO₄ (0,02 g) e ágar bacteriológico (15 g). O volume foi completado para 1 L com água destilada e deionizada e o pH do meio foi ajustado a 7,5 utilizando uma base (NaOH 3 M). Todos os isolados tiveram sua identidade confirmada como *B. thuringiensis* por caracterização morfológica por meio da observação das células vegetativas, esporos e cristais sob microscopia óptica com contraste de fases (1.000 x).

3.3. Eficiência de isolados de *Bacillus thuringiensis* na mortalidade de juvenis de segundo de estágio de *Meloidogyne javanica* *in vitro*

Câmaras de eclosão, que consiste na deposição de suspensão contendo nematoides em diferentes estádios de desenvolvimento sob papel filtro e tela em placas de Petri, foram preparadas e incubadas em estufa microbiológica a 25°C, no escuro, por 7 dias para a obtenção de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica*. Para eliminar J2 inativos, a suspensão foi submetida à técnica do Funil de Baermann (1917), que consiste na deposição da suspensão de nematoides em funil coberto com tela e papel filtro, e base vedada, mantidos em temperatura ambiente. Os J2 móveis migraram através da tela e papel filtro sendo recolhidos após 48 h na parte inferior do funil, que em seguida foram utilizados nos ensaios.

Visando à obtenção de uma concentração padrão a ser utilizada nos testes com todos os isolados de Bt na seleção *in vitro*, e na indisponibilidade de uma cepa com atividade nematocida conhecida para utilização como cepa padrão de controle, tomou-se como base a CL50 obtida do isolado *B. thuringiensis darmstadiensis* T03 C001.

A atividade nematocida de *B. thuringiensis darmstadiensis* já havia sido demonstrada em outros estudos (Jouzani et al., 2008; Wellman-Desbiens et al., 2011), o que levou a escolha dessa cepa como padrão de controle positivo. Para isso, o isolado foi cultivado em placas de Petri com meio LB enriquecido de sais e, após 72 horas, o conteúdo bacteriano da placa de Petri foi transferido, com auxílio de alça de platina, para tubos Falcon com 20,0 mL de capacidade contendo 10 mL de água deionizada autoclavada.

O conteúdo do tubo foi homogeneizado com o auxílio de agitador para tubo tipo vórtex até a completa dissolução do pélete. A partir dessa suspensão foram derivados 11 tratamentos, os quais foram ajustados às seguintes concentrações: 6,00E+06; 1,20E+07; 2,40E+07; 4,80E+07; 9,60E+07; 1,92E+08; 3,84E+08; 7,68E+08; 1,54E+09; 3,07E+09; 6,14E+09 unidades formadoras de colônias (UFC). Uma alíquota de cada concentração foi analisada em espectrofotômetro a 625 nm de absorvância, a fim de obter uma correlação de UFC e absorvância.

Em placas de células de 24 poços, foram adicionados ~200 J2 em 1 mL de água destilada autoclavada por poço. Posteriormente, 1 mL da suspensão de cada concentração do isolado *B. thuringiensis darmstadiensis* T03 C001 foi adicionado. Cada poço foi considerado uma unidade experimental, repetida 4 vezes. Visando aumentar a frequência de pulsação do estilete e o aumento da sucção do conteúdo da solução pelo nematoide, foi adicionado em cada poço 1 µg/mL de resorcinol (Zhang et al., 2012). Água destilada autoclavada + resorcinol foi utilizada como controle.

As placas contendo os tratamentos foram identificadas e incubadas na ausência de luz a 25 °C. Após 48 h, 10 µL da solução NaOH 1 mol L⁻¹ foi adicionada em cada cavidade, segundo a metodologia de Chen e Dickson (2000). Em seguida, 1 mL da suspensão do poço foi recuperada e analisada em câmara de Peters acoplada ao microscópio. Foram considerados mortos os J2 que permaneceram com o corpo completamente distendido durante 15 segundos, 1 min após a adição da solução. A

partir da mortalidade observada nas diferentes concentrações foi estimada a CL50, a qual foi utilizada na avaliação de mortalidade dos 84 isolados.

Os isolados foram cultivados em meio de cultura e incubados conforme metodologia supracitada, em seguida, todo conteúdo bacteriano da placa de Petri foi individualmente transferido, com auxílio de alça de platina, para tubo Falcon com 20,0 mL de capacidade contendo 5 mL de água deionizada autoclavada. A suspensão obtida foi homogeneizada em vórtex e a partir desta, a concentração foi padronizada em espectrofotômetro a 625 nm em 0,84 de densidade óptica (D.O.). Em placas de células de 24 poços, foram adicionados ~200 J2 em 2 mL de água destilada autoclavada por poço.

Posteriormente, 1 mL da suspensão de cada isolado Bt (0,84 D.O) foi adicionado, sendo cada poço uma unidade experimental, repetida 4 vezes. Em cada poço foi adicionado 1 µg/mL de resorcinol. Água destilada autoclavada + resorcinol foi utilizado como controle. As placas foram identificadas, vedadas e incubadas no escuro a 28 °C. Após 48 h, 10 µL da solução NaOH 1 mol L⁻¹ foi adicionada em cada cavidade. Em seguida, 1 mL da suspensão do poço foi recuperada e analisada em câmara de Peters acoplada ao microscópio, conforme supracitado.

3.4. Eficiência de isolados de *Bacillus thuringiensis* na redução populacional de *Meloidogyne javanica* e na promoção de crescimento de soja em casa de vegetação

Visando avaliar o efeito dos diferentes isolados Bt na supressão de *M. javanica* *in vivo* e na promoção de crescimento de soja, um segundo ensaio foi instalado em casa de vegetação. Foram avaliados 84 isolados de Bt, sendo cada um considerado um tratamento. Além disso, também foram avaliados testemunha não tratada inoculada com *M. javanica*, testemunha não tratada sem inoculação de *M. javanica*, padrão comercial químico Avicta® (abamectina) e padrão comercial biológico Votivo® (*Bacillus firmus*), totalizando 88 tratamentos. Cada tratamento foi composto por 5 repetições, dispostos em delineamento inteiramente casualizado (DIC).

Os isolados foram cultivados em meio LB acrescido de sais conforme metodologia supracitada, de onde foram obtidas as suspensões, utilizadas na forma

de tratamento de sementes. As suspensões foram ajustadas a uma concentração de $3,0E+8$ UFC e armazenadas em geladeira ($\pm 8^{\circ}C$) por 18h. As sementes de soja foram tratadas 2 horas antes da semeadura, na dosagem de 300 mL/100kg de sementes. A dosagem utilizada no padrão comercial químico (Avicta®) e biológico (Votivo®) foi de 150 mL/100 kg.

A cultivar de soja utilizada foi BMX Desafio RR, suscetível ao *M. javanica*. Foram semeadas 4 sementes de soja em vasos plásticos preenchidos com 2 litros de substrato autoclavado na proporção de 3:1:1 de terra, areia e esterco bovino. Dez dias após a semeadura, duas plantas menos vigorosas de cada vaso foram desbastadas, restando duas plantas por vaso, sendo esse considerado uma unidade experimental.

A inoculação de *M. javanica* foi realizada nas plantas restantes no vaso após o desbaste. Uma suspensão de 5 mL, contendo 4 mil ovos e juvenis de *M. javanica*, foi inoculada em cada planta, exceto na testemunha sem nematoide, a qual recebeu apenas água. As plantas de soja foram cultivadas conforme as demandas fitotécnicas necessárias à cultura até atingirem o estágio R5.4, aos 80 dias após semeadura (DAS), época em que o experimento foi retirado para avaliação.

Foram avaliados os seguintes parâmetros de desenvolvimento da planta: vigor (por meio de uma escala de notas de 1 a 3) e emergência (%) ao 10^o DAS, altura da planta (cm), massa fresca das partes aéreas (MFPA), massa fresca de raízes (MFR) e número de vagens por planta aos 80 DAS. Na mesma época, também foram avaliados a população total de ovos e juvenis de *M. javanica* nas raízes, extraídos e quantificados conforme metodologia descrita no item 2.1. dessa sessão. Por meio da população total foi calculado o fator de reprodução (FR), obtido pela razão entre a população final e a população inicial. Também, foi calculado a população de nematoides/g de raízes.

3.5. Análise dos dados

Para a análise estatística, os dados foram submetidos ao teste de normalidade dos resíduos e homoscedasticidade de variâncias (Gastwirth et al., 2009; Royston, 1995) e transformados por Box-Cox como proposto por Hawkins e Weisberg (2017), quando necessário. Com os pressupostos atendidos, os dados foram submetidos a

análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott (0,05), quando o número de tratamentos foi superior a 10 e Tukey (0,05) quando o número de tratamentos foi inferior 10. Para a estimativa da CL₅₀ foi realizado a análise de regressão Probit (Finney, 1971).

Para estudar a interação entre as variáveis, uma análise de componentes principais (ACP) foi realizada. Onde as informações relevantes do conjunto de dados original foram condensadas em algumas dimensões (componentes principais, PCs), combinações lineares das variáveis originais (Hair et al., 2005). Autovalores maiores que 1 foram considerados significativos, segundo o critério de Kaiser (1958). As cargas fatoriais fornecem informações sobre a relação entre as variáveis e a variância explicada pelos fatores na ACP. As cargas fatoriais com valores absolutos superiores a 0,6 foram consideradas significativas. Todas as análises foram realizadas no software R Core Team (2020).

4. RESULTADOS

4.1. Mortalidade *in vitro* de *Meloidogyne javanica* sob efeito de diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis*

No ensaio realizado para a estimativa da CL₅₀ do isolado *Bacillus thuringiensis darmstadiensis* T03 C001, adotado como cepa padrão, foi estimado uma CL₅₀ de 0,84 D.O. em espectrofotômetro a 625 nm (Figura 2). A concentração de 0,84 D.O. para absorvância correspondeu a uma concentração de 2,4E+6 UFC/mL. A sequência da seleção para os 84 isolados estudados foi realizada com base nessa concentração.

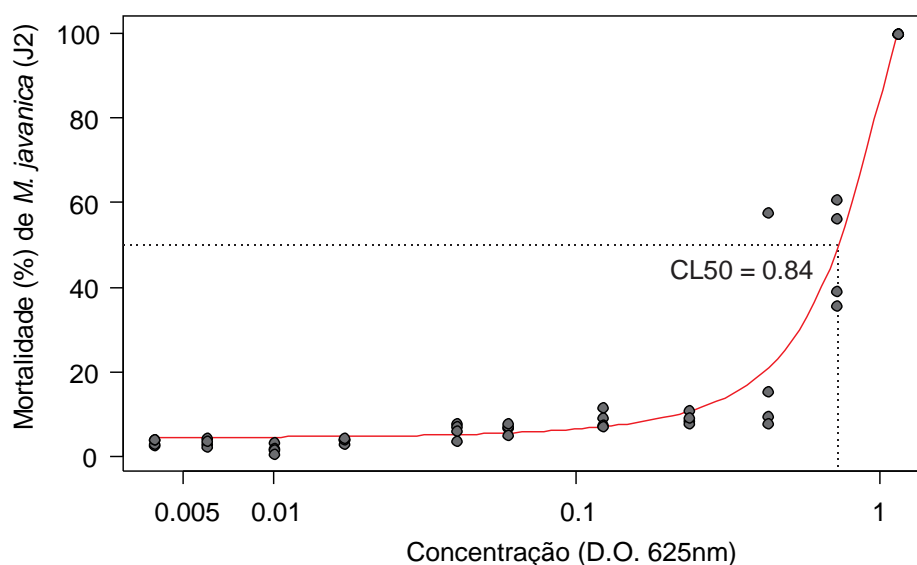


Figura 2. Análise de regressão Probit para a mortalidade *in vitro* de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica* sob efeito da aplicação *Bacillus thuringiensis darmstadiensis* T03 C001.

Na seleção conduzida *in vitro*, os 84 isolados de *B. thuringiensis* foram avaliados quanto à capacidade de causar a mortalidade de J2 de *M. javanica* na concentração de 0,84 D.O.. As maiores mortalidades foram obtidas em 13 isolados ($P < 0,0001$), que foram: *B. t. indiana*, *B. t. thuringiensis* T01 001, *B. t. tochigiensis*, *B. t. aizawai* HD133 (HDB-20), *B. t. fukuokaensis* T03 C001, *B. t. Br 52 – solo*, *B. t. sumiyoshiensis* T03 B001, *B. t. darmstadiensis* T10 001, *B. t. comeri* T21 001, *B. t. silo* T26 001, *B. t. yunnanensis* T20 001, *B. t. cameroun*, *B. t. londrina* (Br 33) (Figura 3). Dentre esses, os isolados *B. t. indiana*, *B. t. thuringiensis* T01 001, *B. t. tochigiensis* se destacaram, com mortalidade superior a 62% ($P < 0,0001$).

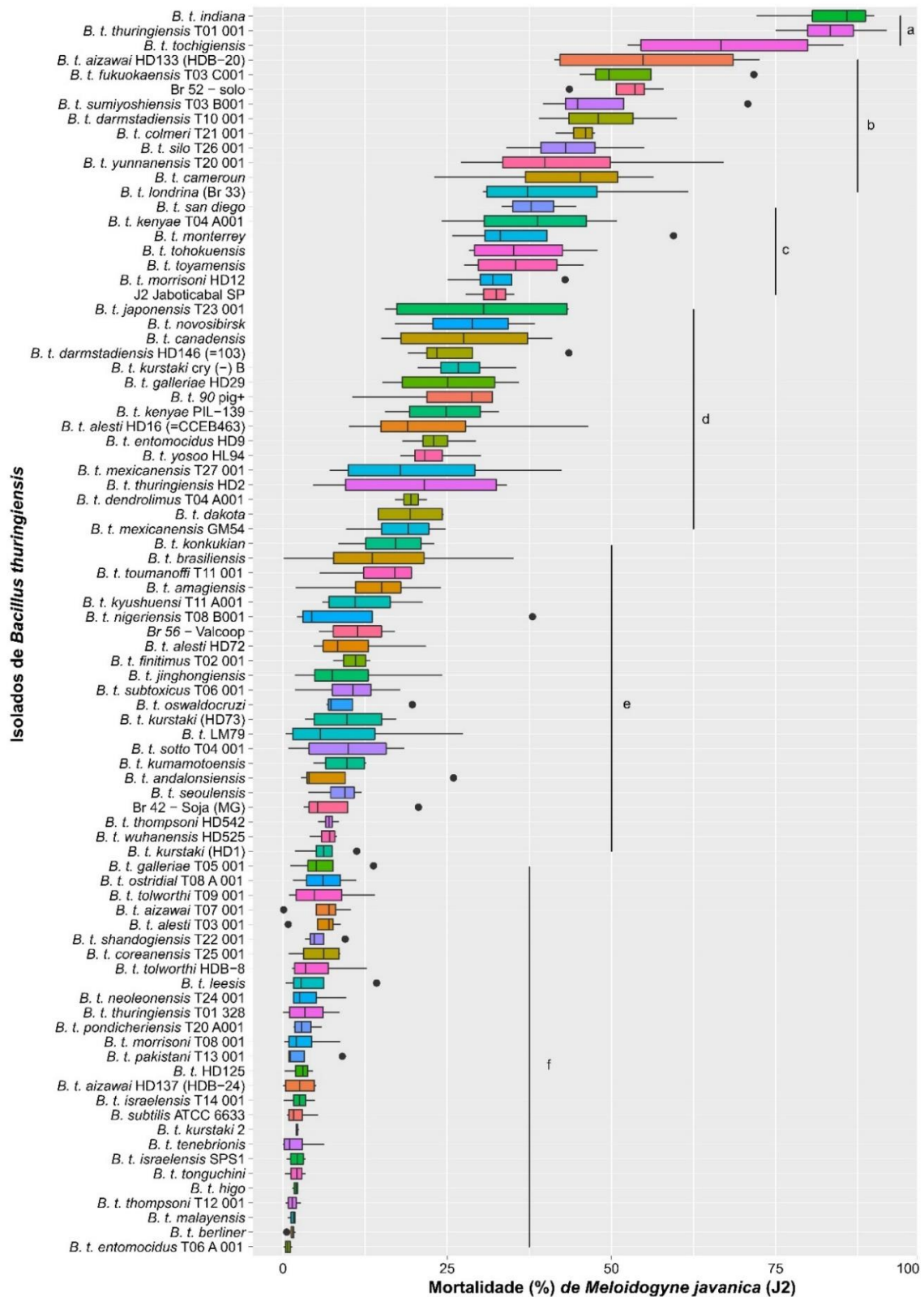


Figura 3. Efeito de isolados de *Bacillus thuringiensis* ($2,4E+6$ UFC/mL) na mortalidade *in vitro* de juvenis de segundo estágio de *Meloidogyne javanica*. Letras diferentes nas barras indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Scott-knot (0,05).

4.2. Promoção de crescimento de soja e supressão de *Meloidogyne javanica* por meio de diferentes isolados de *Bacillus thuringiensis* no tratamento de sementes de soja cv. BMX Desafio RR

Os 84 isolados de *B. thuringiensis* também foram avaliados quando a sua capacidade de suprimir a população de *M. javanica* em plantas de soja. Os dados para cada variável foram analisados individualmente, o que resultou, conforme o teste de agrupamento de Scott-knot em dois grupos de tratamentos para cada variável, tanto para os parâmetros de desenvolvimento de planta (Tabela 1), quando para os parâmetros nematológicos (Tabela 2.).

Para simplificar a visualização dos tratamentos com resultados mais interessantes, foi feita uma mesclagem dos isolados que apresentaram as maiores médias ($P < 0,05$) para os parâmetros de desenvolvimento de plantas (Tabela 1) e para as menores médias ($P < 0,05$) para os parâmetros de multiplicação dos nematoides (Tabela 2). Com isso, 8 isolados foram classificados como melhores em promoção de crescimento de soja e supressão de *M. javanica* em todos os parâmetros avaliados. São eles: *B. t. dendrolimus* T04 A001, *B. t. indiana*, *B. t. kenyae* T04 A001, *B. t. leesis*, *B. t. monterrey*, *B. t. morrisoni* T08 001, *B. t. thuringiensis* T01 328, *B. t. toumanoffi* T11 001, *B. t. Br 52* – solo. Ainda, buscando selecionar apenas os 4 isolados mais promissores, optou-se pelos isolados, *B. t. dendrolimus* T04 A001, *B. t. indiana*, *B. t. monterrey*, *B. t. Br 52* – solo, sendo esses, os que apresentaram maior mortalidade *in vitro*.

Tabela 1. Efeito dos isolados de *Bacillus thuringiensis* (3E+8 UFC/mL – 300 mL/100kg de sementes) na promoção de crescimento de plantas de soja cv. BMX Desafio RR, inoculadas com nematoide de galha, *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos	Nº Vagens	MFR (g)	Altura da planta (cm)	MFPA (g)	Emergência (%)	Vigor
<i>B. t. 90 pig+</i>	10,4 a	6,6 b	31,8 a	20,6 a	75 b	2,6
<i>B. t. aizawai</i> HD133 (HDB-20)	10,1 a	6,5 b	31,7 a	18,7 b	80 a	2,4
<i>B. t. aizawai</i> HD137 (HDB-24)	10,2 a	8,7 a	35,0 a	22,2 a	70 b	2,3
<i>B. t. aizawai</i> T07 001	7,5 b	5,3 b	29,9 b	17,1 b	60 b	2,6
<i>B. t. alesti</i> HD16 (=CCEB463)	8,4 b	5,3 b	29,9 b	17,2 b	85 a	2,3
<i>B. t. alesti</i> HD72	8,8 b	9,0 a	30,0 b	17,4 b	85 a	2,3
<i>B. t. alesti</i> T03 001	10,2 a	6,3 b	31,3 a	20,2 a	65 b	2,7

Continuação tabela 1...

Tratamentos	Nº Vagens		MFR (g)		Altura da planta (cm)		MFPA (g)		Emergência (%)		Vigor
<i>B. t. amagiensis</i>	8,4	b	5,1	b	30,5	b	17,3	b	85	a	2,2
<i>B. t. andalonsiensis</i>	9,4	a	8,0	a	30,5	b	20,2	a	85	a	2,6
<i>B. t. berliner</i>	9,7	a	9,1	a	30,3	b	21,5	a	80	a	2,6
<i>B. t. brasiliensis</i>	10,6	a	8,5	a	33,1	a	21,7	a	65	b	2,6
<i>B. t. cameroun</i>	9,4	a	8,8	a	31,4	a	18,9	b	70	b	2,5
<i>B. t. canadensis</i>	10,5	a	9,3	a	33,1	a	20,5	a	80	a	2,7
<i>B. t. colmeri</i> T21 001	8,0	b	9,0	a	29,5	b	19,0	b	90	a	2,8
<i>B. t. coreanensis</i> T25 001	8,9	b	6,2	b	30,7	b	17,9	b	100	a	2,5
<i>B. t. dakota</i>	8,8	b	7,7	a	29,5	b	17,6	b	95	a	2,5
<i>B. t. darmstadiensis</i> HD146 (=103)	9,4	a	5,8	b	30,7	b	20,1	a	85	a	2,5
<i>B. t. darmstadiensis</i> T10 001	8,7	b	7,6	a	31,1	a	21,3	a	75	b	2,3
<i>B. t. dendrolimus</i> T04 A001	13,8	a	7,8	a	33,9	a	24,3	a	85	a	2,8
<i>B. t. entomocidus</i> HD9	9,6	a	9,5	a	32,1	a	22,2	a	75	b	2,4
<i>B. t. entomocidus</i> T06 A 001	10,5	a	8,4	a	33,0	a	21,3	a	55	b	2,6
<i>B. t. finitimus</i> T02 001	10,0	a	11,8	a	32,9	a	21,7	a	85	a	2,6
<i>B. t. fukuokaensis</i> T03 C001	11,0	a	7,5	a	30,1	b	19,7	b	85	a	2,5
<i>B. t. galleriae</i> HD29	7,7	b	5,6	b	28,9	b	16,3	b	85	a	2,8
<i>B. t. galleriae</i> T05 001	9,1	b	9,0	a	29,9	b	20,0	b	50	b	2,6
<i>B. t. HD125</i>	10,1	a	6,6	b	32,3	a	20,4	a	80	a	2,6
<i>B. t. higo</i>	10,3	a	9,8	a	30,4	b	21,0	a	80	a	2,6
<i>B. t. indiana</i>	12,2	a	12,3	a	32,6	a	26,2	a	95	a	2,9
<i>B. t. israelensis</i> SPS1	8,0	b	9,4	a	31,1	a	18,7	b	90	a	2,5
<i>B. t. israelensis</i> T14 001	11,3	a	6,0	b	34,9	a	19,3	b	100	a	2,8
<i>B. t. japonensis</i> T23 001	11,3	a	6,6	b	32,5	a	22,2	a	85	a	2,7
<i>B. t. jinghongiensis</i>	8,4	b	10,8	a	30,9	b	19,3	b	95	a	2,9
<i>B. t. kenyae</i> PIL-139	9,9	a	8,8	a	30,5	b	19,2	b	90	a	2,2
<i>B. t. kenyae</i> T04 A001	10,7	a	8,3	a	35,8	a	20,8	a	65	b	2,7
<i>B. t. konkukian</i>	7,6	b	6,6	b	30,8	b	16,3	b	85	a	2,9
<i>B. t. kumamotoensis</i>	10,5	a	6,1	b	30,4	b	18,9	b	85	a	2,5
<i>B. t. kurstaki</i> (HD1)	9,2	a	9,0	a	28,2	b	21,2	a	95	a	2,5
<i>B. t. kurstaki</i> (HD73)	11,1	a	9,8	a	31,1	a	21,0	a	65	b	2,2
<i>B. t. kurstaki</i> 2	8,3	b	5,3	b	26,7	b	15,6	b	80	a	2,5
<i>B. t. kurstaki</i> cry (-) B	10,1	a	8,4	a	30,9	b	20,7	a	70	b	2,8
<i>B. t. kyushuensi</i> T11 A001	8,0	b	9,7	a	29,0	b	19,2	b	80	a	2,3
<i>B. t. leesis</i>	10,3	a	8,4	a	32,5	a	20,7	a	80	a	2,5
<i>B. t. LM79</i>	10,6	a	6,1	b	30,0	b	20,2	a	95	a	2,5
<i>B. t. londrina</i> (Br 33)	8,5	b	7,2	b	30,7	b	16,6	b	80	a	2,8
<i>B. t. malayensis</i>	10,2	a	8,0	a	33,1	a	21,0	a	90	a	2,8
<i>B. t. mexicanensis</i> GM54	9,9	a	6,8	b	29,2	b	18,4	b	80	a	2,2
<i>B. t. mexicanensis</i> T27 001	10,2	a	7,8	a	30,3	b	21,4	a	80	a	2,7
<i>B. t. monterrey</i>	10,0	a	9,4	a	31,8	a	21,6	a	95	a	2,7
<i>B. t. morrisoni</i> HD12	8,4	b	6,9	b	31,9	a	19,4	b	80	a	2,5
<i>B. t. morrisoni</i> T08 001	9,7	a	9,3	a	31,6	a	22,8	a	85	a	2,5
<i>B. t. neoleonensis</i> T24 001	10,6	a	13,0	a	32,8	a	24,1	a	75	b	2,5

Continuação tabela 1...

Tratamentos	Nº Vagens	MFR (g)	Altura da planta (cm)	MFPA (g)	Emergência (%)	Vigor
<i>B. t. nigeriensis</i> T08 B001	8,5 b	7,5 b	28,1 b	18,3 b	80 a	2,4
<i>B. t. novosibirsk</i>	9,7 a	8,4 a	32,9 a	18,1 b	85 a	2,7
<i>B. t. ostridial</i> T08 A 001	10,9 a	7,4 b	30,3 b	22,2 a	85 a	2,4
<i>B. t. oswaldocruzi</i>	8,4 b	7,9 a	28,8 b	18,4 b	75 b	2,5
<i>B. t. pakistani</i> T13 001	9,6 a	6,5 b	32,0 a	19,1 b	90 a	2,5
<i>B. t. pondicheriensis</i> T20 A001	8,5 b	5,3 b	30,2 b	18,1 b	75 b	2,5
<i>B. t. san diego</i>	9,7 a	7,2 b	31,2 a	19,6 b	75 b	2,7
<i>B. t. seoulensis</i>	7,7 b	6,3 b	31,3 a	15,0 b	85 a	2,8
<i>B. t. shandogiensis</i> T22 001	9,2 b	8,8 a	31,9 a	19,2 b	95 a	2,7
<i>B. t. silo</i> T26 001	10,9 a	9,4 a	32,0 a	20,8 a	85 a	2,6
<i>B. t. sotto</i> T04 001	10,0 a	10,5 a	28,7 b	20,8 a	70 b	2,5
<i>B. t. subtoxicus</i> T06 001	7,3 b	8,1 a	29,0 b	17,1 b	65 b	2,7
<i>B. t. sumiyoshiensis</i> T03 B001	8,4 b	11,2 a	30,0 b	17,4 b	95 a	2,8
<i>B. t. tenebrionis</i>	10,0 a	10,7 a	33,6 a	22,2 a	90 a	2,8
<i>B. t. thompsoni</i> HD542	9,0 b	8,0 a	31,9 a	19,3 b	70 b	2,4
<i>B. t. thompsoni</i> T12 001	8,3 b	6,1 b	30,3 b	18,4 b	85 a	2,9
<i>B. t. thuringiensis</i> HD2	7,7 b	6,3 b	26,8 b	16,3 b	80 a	2,5
<i>B. t. thuringiensis</i> T01 001	7,4 b	6,7 b	30,8 b	18,1 b	90 a	2,6
<i>B. t. thuringiensis</i> T01 328	10,8 a	11,6 a	33,1 a	22,5 a	85 a	2,8
<i>B. t. tochigiensis</i>	10,0 a	9,3 a	32,1 a	20,5 a	80 a	2,6
<i>B. t. tohokuensis</i>	10,3 a	12,2 a	30,3 b	23,0 a	65 b	2,7
<i>B. t. tolworthi</i> HDB-8	9,6 a	5,5 b	32,3 a	20,8 a	65 b	2,7
<i>B. t. tolworthi</i> T09 001	8,1 b	6,1 b	27,7 b	16,4 b	80 a	2,7
<i>B. t. tonguchini</i>	7,5 b	8,1 a	32,1 a	16,7 b	90 a	2,5
<i>B. t. toumanoffi</i> T11 001	10,9 a	8,7 a	31,3 a	21,2 a	90 a	2,4
<i>B. t. toyamensis</i>	9,8 a	10,5 a	29,1 b	19,5 b	90 a	2,2
<i>B. t. wuhanensis</i> HD525	7,7 b	7,5 b	28,4 b	16,1 b	70 b	2,2
<i>B. t. yosoo</i> HL94	9,1 b	3,3 b	30,7 b	17,5 b	80 a	2,5
<i>B. t. yunnanensis</i> T20 001	9,6 a	8,0 a	32,6 a	18,5 b	85 a	2,8
Br 42 - Soja (MG)	11,4 a	9,1 a	30,7 b	21,1 a	65 b	2,5
Br 52 - solo	9,4 a	7,5 a	31,1 a	20,0 a	100 a	2,2
Br 56 - Valcoop	10,0 a	9,3 a	31,1 a	19,9 a	100 a	2,6
J2 Jaboticabal SP	8,1 b	6,0 b	29,7 b	18,1 b	90 a	2,5
T_Avicta® (abamectina)	8,4 b	8,1 a	30,9 b	18,9 b	65 b	2,4
T_Não tratada (com nematoide)	8,0 b	6,2 b	25,5 b	19,3 b	80 a	2,4
T_Não tratada (sem nematoide)	7,7 b	7,8 a	26,6 b	17,8 b	75 b	2,0
T_Votivo® (<i>Bacillus firmus</i>)	11,8 a	6,3 b	30,9 b	18,9 b	85 a	2,7
P valor	0,007	0,001	0,001	0,049	0,046	0,635
CV%	11,26	16,51	5,24	10,37	10,61	6,42

*Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Scott-knot (0,05). MFR, massa fresca de raízes; MFPA, massa fresca da parte aérea.

Tabela 2. Efeito dos isolados de *Bacillus thuringiensis* (3E+8 UFC/mL – 300 mL/100kg de sementes) no controle de *Meloidogyne javanica* em plantas de soja cv. BMX Desafio RR.

Tratamentos	Total de nematoides*		Fator de Reprodução (FR)		Nematoides g de raízes ⁻¹	
<i>B. t.</i> 90 pig+	4419	b	1,1	b	847,2	b
<i>B. t. aizawai</i> HD133 (HDB-20)	5275	b	1,3	b	1133,3	b
<i>B. t. aizawai</i> HD137 (HDB-24)	4668	b	1,2	b	781,0	b
<i>B. t. aizawai</i> T07 001	6465	b	1,6	b	2114,0	a
<i>B. t. alesti</i> HD16 (=CCEB463)	10729	a	2,7	a	2358,5	a
<i>B. t. alesti</i> HD72	19139	a	4,8	a	2870,7	a
<i>B. t. alesti</i> T03 001	3890	b	1,0	b	982,2	b
<i>B. t. amagiensis</i>	7702	a	1,9	b	2794,3	a
<i>B. t. andalonsiensis</i>	8939	a	2,2	a	1166,1	b
<i>B. t. berliner</i>	7858	a	2,0	b	865,6	b
<i>B. t. brasiliensis</i>	8830	a	2,2	a	1304,9	b
<i>B. t. cameroun</i>	9126	a	2,3	a	1320,5	a
<i>B. t. canadensis</i>	9301	a	2,3	a	1368,5	a
<i>B. t. colmeri</i> T21 001	10674	a	2,7	a	1699,7	a
<i>B. t. coreanensis</i> T25 001	10044	a	2,5	a	1840,5	a
<i>B. t. dakota</i>	9741	a	2,4	a	1607,3	a
<i>B. t. darmstadiensis</i> HD146 (=103)	9009	a	2,3	a	1880,5	a
<i>B. t. darmstadiensis</i> T10 001	10993	a	2,7	a	1608,1	a
<i>B. t. dendrolimus</i> T04 A001	5516	b	1,4	b	1110,0	b
<i>B. t. entomocidus</i> HD9	8823	a	2,2	a	1331,4	b
<i>B. t. entomocidus</i> T06 A 001	10620	a	2,7	a	1393,7	a
<i>B. t. finitimus</i> T02 001	14634	a	3,7	a	1946,7	a
<i>B. t. fukuokaensis</i> T03 C001	15078	a	3,8	a	2015,3	a
<i>B. t. galleriae</i> HD29	7430	a	1,9	b	1933,0	a
<i>B. t. galleriae</i> T05 001	4746	b	1,2	b	532,6	b
<i>B. t.</i> HD125	11678	a	2,9	a	2976,7	a
<i>B. t. higo</i>	3937	b	1,0	b	468,1	b
<i>B. t. indiana</i>	7344	b	1,8	b	1023,3	b
<i>B. t. israelensis</i> SPS1	13638	a	3,4	a	1853,8	a
<i>B. t. israelensis</i> T14 001	10464	a	2,6	a	2523,4	a
<i>B. t. japonensis</i> T23 001	12689	a	3,2	a	1913,7	a
<i>B. t. jinghongiensis</i>	5679	b	1,4	b	690,0	b
<i>B. t. kenyae</i> PIL-139	9390	a	2,3	a	1285,0	b
<i>B. t. kenyae</i> T04 A001	5213	b	1,3	b	769,9	b
<i>B. t. konkukian</i>	6574	b	1,6	b	1529,3	b
<i>B. t. kumamotoensis</i>	8416	b	2,1	b	1621,5	a
<i>B. t. kurstaki</i> (HD1)	10467	a	2,6	a	1375,8	b
<i>B. t. kurstaki</i> (HD73)	8753	a	2,2	a	892,2	b
<i>B. t. kurstaki</i> 2	3594	b	0,9	b	687,2	b
<i>B. t. kurstaki</i> cry (-) B	17163	a	4,3	a	3226,6	a

Continuação tabela 2...

Tratamentos	Total de nematoides*		Fator de Reprodução (FR)		Nematoides g de raízes ⁻¹	
<i>B. t. kyushuensis</i> T11 A001	9990	a	2,5	a	1051,2	b
<i>B. t. leesis</i>	5516	b	1,4	b	889,3	b
<i>B. t. LM79</i>	7609	b	1,9	b	1504,3	a
<i>B. t. londrina</i> (Br 33)	4684	b	1,2	b	831,8	b
<i>B. t. malayensis</i>	8558	a	2,1	a	1233,1	b
<i>B. t. mexicanensis</i> GM54	14307	a	3,6	a	2731,3	a
<i>B. t. mexicanensis</i> T27 001	12884	a	3,2	a	2122,8	a
<i>B. t. monterrey</i>	5516	b	1,4	b	769,4	b
<i>B. t. morrisoni</i> HD12	5345	b	1,3	b	1055,8	b
<i>B. t. morrisoni</i> T08 001	3330	b	0,8	b	547,2	b
<i>B. t. neoleonensis</i> T24 001	11600	a	2,9	a	1155,1	b
<i>B. t. nigeriensis</i> T08 B001	8293	a	2,1	b	1474,6	a
<i>B. t. novosibirsk</i>	5874	b	1,5	b	718,6	b
<i>B. t. ostridial</i> T08 A 001	3633	b	0,9	b	623,9	b
<i>B. t. oswaldocruzi</i>	9250	a	2,3	a	1456,5	a
<i>B. t. pakistani</i> T13 001	3742	b	0,9	b	736,9	b
<i>B. t. pondicheriensis</i> T20 A001	6154	b	1,5	b	1406,1	a
<i>B. t. san diego</i>	14393	a	3,6	a	2789,2	a
<i>B. t. seoulensis</i>	2482	b	0,6	b	445,5	b
<i>B. t. shandogiensis</i> T22 001	3260	b	0,8	b	526,6	b
<i>B. t. silo</i> T26 001	11133	a	2,8	a	2090,4	a
<i>B. t. sotto</i> T04 001	9173	a	2,3	a	949,0	b
<i>B. t. subtoxicus</i> T06 001	5399	b	1,3	b	857,0	b
<i>B. t. sumiyoshiensis</i> T03 B001	3836	b	1,0	b	418,5	b
<i>B. t. tenebrionis</i>	9149	a	2,3	a	912,9	b
<i>B. t. thompsoni</i> HD542	6854	b	1,7	b	1058,5	b
<i>B. t. thompsoni</i> T12 001	7173	a	1,8	b	1378,6	a
<i>B. t. thuringiensis</i> HD2	5874	b	1,5	b	971,7	b
<i>B. t. thuringiensis</i> T01 001	10402	a	2,6	a	2133,5	a
<i>B. t. thuringiensis</i> T01 328	5625	b	1,4	b	656,4	b
<i>B. t. tochigiensis</i>	12627	a	3,2	a	2170,3	a
<i>B. t. tohokuensis</i>	7609	b	1,9	b	809,5	b
<i>B. t. tolworthi</i> HDB-8	7578	a	1,9	b	1785,4	a
<i>B. t. tolworthi</i> T09 001	5928	b	1,5	b	1132,7	b
<i>B. t. tonguchini</i>	20088	a	5,0	a	2611,2	a
<i>B. t. toumanoffi</i> T11 001	6870	b	1,7	b	862,7	b
<i>B. t. toyamensis</i>	4792	b	1,2	b	461,0	b
<i>B. t. wuhanensis</i> HD525	4645	b	1,2	b	1045,7	b
<i>B. t. yosoo</i> HL94	4147	b	1,0	b	1532,8	a
<i>B. t. yunnanensis</i> T20 001	13491	a	3,4	a	1683,9	a
Br 42 - Soja (MG)	6489	b	1,6	b	962,2	b
Br 52 - solo	3594	b	0,9	b	699,7	b
Br 56 - Valcoop	24717	a	6,2	a	4413,9	a

Continuação tabela 2...

Tratamentos	Total de nematoides*		Fator de Reprodução (FR)		Nematoides g de raízes ⁻¹	
J2 Jaboticabal SP	9741	a	2,4	a	1956,6	a
T_Avicta® (abamectina)	661	b	0,2	b	95,1	b
T_Não tratada (com nematoide)	10417	a	2,6	a	2290,1	a
T_Não tratada (sem nematoide)	0	b	0,0	b	0,0	b
T_Votivo® (<i>Bacillus firmus</i>)	10959	a	2,7	a	1677,7	a
P valor	0,0001		0,0001		0,0001	
CV%	38,60		12,79		44,24	

*Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Scott-knot (0,05). CV% = Coeficiente de variação. FR obtido do padrão de inóculo Tomate Santa Cruz Kada = 9,6.

O isolado *B. t. dendrolimus* T04 A001 também resultou no maior n.º de vagens ($P < 0,0001$), mas não se diferiu de *B. t. indiana* do padrão comercial biológico. Para altura de plantas de soja, *B. t. dendrolimus* T04 A001 também se destacou com maior média, embora não tenha diferido dos demais isolados Bt e dos padrões comerciais ($P < 0,01$). Com relação a MFPA, *B. t. indiana* foi o que resultou em maior média, quando comparado aos padrões comerciais e a testemunha s/ nematoide ($P < 0,01$), no entanto, não se diferiu dos demais tratamentos.

A estrutura multivariada dos dados e o efeito dos tratamentos na correlação entre as variáveis, tanto do experimento *in vitro*, quanto do experimento *in vivo*, foi estudado pela análise de componentes principais (ACP) (Figura 5). A ACP evidenciou uma correlação entre as variáveis, total de *M. javanica* e total de *M. javanica*/g de raízes. Entretanto, as duas variáveis nematológicas não se correlacionaram com as demais.

Também, foi verificada correlação entre as variáveis de crescimento das plantas de soja, Altura, Vagens, MFPA e MFR. O teste de mortalidade *in vitro*, não correlacionou com qualquer variável analisada. Pela ACP, também é possível visualizar que os 4 isolados selecionados apresentaram maiores índices de crescimento de planta, assim como, menores índices de multiplicação de nematoides, o que não foi tão evidenciado para as testemunhas e padrões comerciais avaliados.

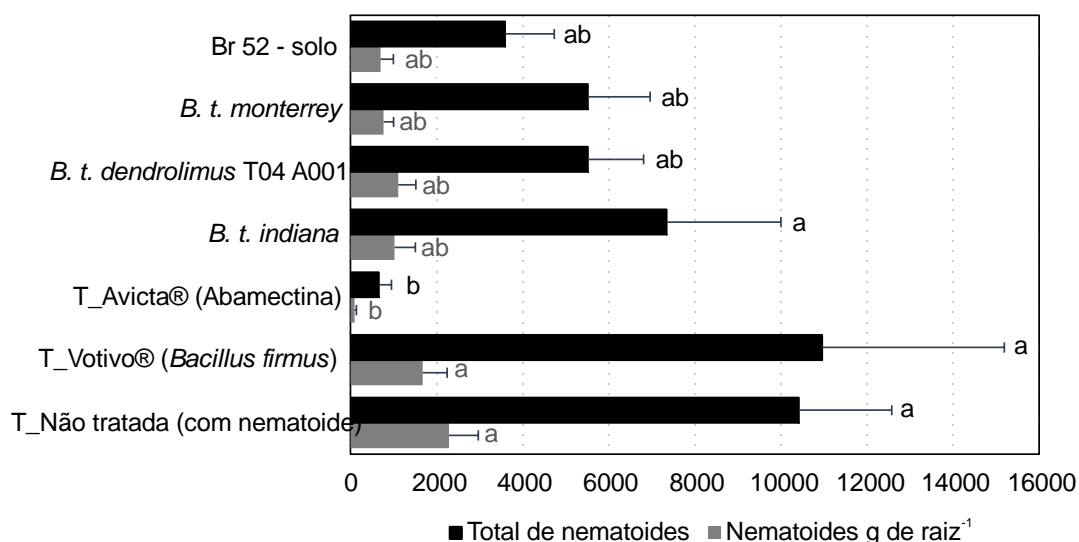


Figura 4. Efeito dos isolados de *Bacillus thuringiensis* ($3E+8$ UFC/mL – 300 mL/100kg de sementes) com melhores respostas à supressão de *Meloidogyne javanica* em soja (cv. BMX Desafio RR) cultivada em vaso, na casa de vegetação. Médias dos tratamentos comparadas por Tukey (0,05).

Tabela 3. Efeito dos isolados de *Bacillus thuringiensis* ($3,0E+8$ UFC/mL – 300 mL/100kg de sementes) com melhores respostas ao vigor e emergência de plântulas de soja inoculadas com *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos	Vigor da plântula ¹	Emergência (%)
<i>B. t. indiana</i>	2,6 a	95 a
<i>B. t. dendrolimus</i> T04 A001	2,8 a	85 ab
<i>B. t. monterrey</i>	2,7 a	95 a
Br 52 - solo	2,2 a	100 a
T_Votivo® (<i>Bacillus firmus</i>)	2,7 a	85 ab
T_Não tratada (com nematoide)	2,4 a	80 ab
T_Avicta® (Abamectina)	2,4 a	65 b
T_Não tratada (sem nematoide)	1,9 a	75 ab
CV%	6,55	6,48
P valor	0,0531	0,0062

*Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,05). CV% = Coeficiente de variação. ¹ Dados de vigor baseado em escala de notas de 1 a 3, em que 1 são plântulas menos vigorosas, 2 plantas intermediárias e 3 plantas mais vigorosas.

Tabela 4. Efeito dos isolados de *Bacillus thuringiensis* (3,0E+8 UFC/mL – 300 mL/100kg de sementes) com melhores respostas no desenvolvimento de plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne javanica*.

Tratamentos	N° vagens	MFR (g)	Altura da planta (cm)	MFPA (g)
<i>B. t. indiana</i>	12,2 ab	12,3 a	32,6 ab	26,17 a
<i>B. t. dendrolimus</i> T04 A001	13,8 a	7,8 a	33,9 a	24,25 ab
<i>B. t. monterrey</i>	10,0 bc	9,4 a	31,8 abc	21,57 ab
Br 52 - solo	9,4 bc	7,6 a	31,0 abc	20,55 ab
T_Votivo® (<i>Bacillus firmus</i>)	11,8 ab	6,3 a	30,9 abc	18,92 b
T_Não tratada (com nematoide)	8,0 c	6,2 a	25,5 c	19,25 ab
T_Avicta® (abamectina)	8,4 c	8,1 a	30,9 abc	18,92 b
T_Não tratada (sem nematoide)	7,67 c	7,8 a	26,6 bc	17,75 b
CV%	7,11	16,75	5,59	7,58
P valor	<0,0001	0,1669	0,006	0,0045

* Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,05). CV% = Coeficiente de variação. MFR, massa fresca de raízes; MFPA, massa fresca da parte aérea.

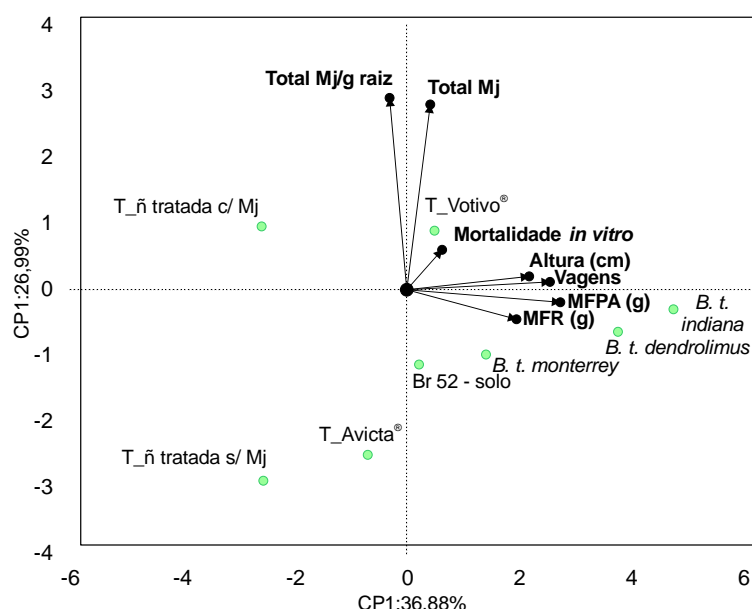


Figura 5. Análise de componentes principais para o efeito dos isolados de *Bacillus thuringiensis* (3,0E+8 UFC/mL – 300 mL/100kg de sementes) e padrões comerciais Avicta® e Votivo® (150 mL/100kg) na mortalidade *in vitro* e *in vivo* de *Meloidogyne javanica* e no desenvolvimento da soja (cv. BMX Desafio RR). MFR, massa fresca de raízes; MFPA, massa fresca da parte aérea.

5. DISCUSSÃO

A avaliação dos isolados quanto a capacidade de causar a mortalidade de *M. javanica* resultou em ao menos 13 isolados que apresentaram mortalidade significativamente superior aos demais. Dentre os isolados avaliados, efeitos nematocidas já haviam sido observados em algumas das linhagens. As linhagens *B. t. darmstadiensis*, *B. t. indiana*, *B. t. thuringiensis*, *B. t. londrina* e *B. t. cameroun*, apresentaram de 20 a 66% de mortalidade de *Caenorhabditis elegans* Maupas, sendo também verificado efeito subletal na geração subsequente (Wellman-Desbiens et al., 2011).

Muitos são os fatores que podem resultar na morte dos nematoides pela ação das bactérias desse grupo. A hipótese principal é pela atividade das toxinas Cry, amplamente conhecidas por sua ação para insetos, que também tem sido estudada para o controle de ácaros e nematoides (Erban et al., 2009; Kahn et al., 2021; Polanczyk et al., 2022; Ravari e Moghaddam, 2015). As toxinas encontradas nessas bactérias são classificadas em duas famílias, conhecidas como Cyt e Cry (Adang; Crickmore; Jurat-Fuentes, 2014), sendo a última a mais estudada no controle de nematoides. Embora esses trabalhos apontem a existência de toxinas nematoide-específicas como, Cry5, Cry6, Cry12, Cry13, Cry14, Cry21 e Cry55 (Glick, 2020), a maioria delas foi testada em nematoides de vida livre, como o nematoide modelo para estudos científicos, *C. elegans*.

Caenorhabditis elegans, diferentemente dos nematoides parasitos de plantas, não possuem estilete, órgão em formato de tubo, semelhante a agulha de uma seringa, responsável pela perfuração e sucção de material citoplasmático do tecido vegetal pelos nematoides fitopatogênicos. O estilete funciona como um filtro, podendo selecionar ou excluir determinadas moléculas de estruturas e tamanhos distintos (Ali et al., 2017). Essa característica pode impedir que certos cristais de proteínas Cry sejam ingeridos pelo fitonematoide, tornando-as incapazes de efetivar o controle em condições naturais (Ali et al., 2017; Zhang et al., 2012). Além disso, há variação no formato e tamanho dos estiletos entre as espécies de fitonematoides, ou seja, uma proteína efetiva no controle de uma espécie de *Meloidogyne*, pode não ser para uma espécie de *Heterodera* (Ali et al., 2017).

Apesar de alguns isolados apresentarem mortalidade *in vitro*, a confirmação de sua eficiência em ensaio *in vivo* foi necessária para verificar se o efeito de controle seria estável nos mesmos isolados. No ensaio *in vivo*, observou-se que não houve correlação entre a mortalidade observada *in vitro* e a supressão de nematoides observada *in vivo* para os mesmos isolados. Isso pode ser devido à interação bactéria-planta-nematoide, uma vez que o produto foi aplicado ainda no tratamento de sementes, sendo necessário que o isolado colonizasse o sistema radicular para efetuar a supressão dos nematoides (Nascimento et al., 2022).

Se a interação da bactéria com a planta não for positiva, a atuação do isolado como agente de biocontrole pode ser inviabilizada. Isso pode explicar o porquê de alguns isolados terem apresentado alta eficiência de controle *in vitro*, mas não terem sido eficientes na supressão *in vivo*.

Além da capacidade de supressão da população de *M. javanica*, obtida por *B. thuringiensis*, também foi verificada a capacidade de alguns isolados em promover o crescimento de plantas de soja. A promoção de crescimento de plantas é uma característica frequentemente associada às espécies de *Bacillus* (Huang et al., 2021; Mhatre et al., 2019; Nascimento et al., 2022). Muitos fatores podem ser relacionados a capacidade de promoção de crescimento, que podem ser de forma direta, como, a solubilização de nutrientes, como fósforo e potássio, fixação de nitrogênio, produção de sideróforos e de fitormônios, ou indireta, pelo controle de pragas e/ou aumento da tolerância aos estresses abióticos, como déficit hídrico (Elkoca et al., 2007; Liu et al., 2016; Mhatre et al., 2019; Miljaković et., 2020; Park et al., 2017).

Dentre os 84 isolados de *B. thuringiensis* avaliados, foi possível concluir que os isolados *B. t. dendrolimus* T04 A001, *B. t. indiana*, *B. t. monterrey*, *B. t. Br 52* – solo foram os que apresentaram os melhores resultados para a supressão de *M. javanica* e promoção de crescimento de soja. O controle biológico tem se tornado a principal ferramenta de controle de nematoides, entretanto, a busca por agentes de controle mais eficientes e para novos alvos é constante e necessária, visto a demanda mundial por alimentos sustentáveis. O processo de seleção de novas cepas é a base para o início de um programa de controle biológico. Se o método de seleção adotado não for representativo ao que se espera do produto final, todo o processo poderá ser perdido.

No presente trabalho, foram avaliadas duas formas diferentes de seleção, em que não foi verificada correlação entre os diferentes métodos adotados. Quando o objetivo é a busca por agentes de controle de nematoides, foi observado que é de fundamental importância que a seleção também considere a interação com a planta. Mesmo apresentando mortalidade alta *in vitro*, isso poderá não se repetir *in vivo* por incompatibilidade com a planta hospedeira, assim como, uma cepa ineficiente *in vitro*, após colonizar o sistema radicular, pode apresentar outros mecanismos de ação, ou até mesmo expressar genes distintos que resultem em maior supressão do nematoide.

Apesar de a seleção *in vivo* ser o método mais representativo, ainda é o mais trabalhoso e longo. Portanto, estudos que busquem formas de otimizar a seleção *in vitro* são recomendados, a fim de viabilizar o método e propiciar maior celeridade no processo de seleção.

6. CONCLUSÃO

Foi possível concluir que os isolados: *B. t. indiana*, *B. t. thuringiensis* T01 001, *B. t. tochiensis*, *B. t. aizawai* HD133 (HDB-20), *B. t. fukuokaensis* T03 C001, *B. t. Br 52 – solo*, *B. t. sumiyoshiensis* T03 B001, *B. t. darmstadiensis* T10 001, *B. t. comeri* T21 001, *B. t. silo* T26 001, *B. t. yunnanensis* T20 001, *B. t. cameroun*, *B. t. londrina* (Br 33) são eficientes na mortalidade de *M. javanica in vitro*.

Os isolados *B. t. dendrolimus* T04 A001, *B. t. indiana*, *B. t. monterrey*, *B. t. Br 52 – solo* foram os que apresentaram os melhores resultados para a supressão de *M. javanica* e promoção de crescimento de soja *in vivo*, comparados à testemunha e aos padrões comerciais, Avicta® (abamectina) e Votivo® (*B. firmus*).

7. REFERÊNCIAS

- Abd-Elgawad MMM, Askary TH (2018) Fungal and bacterial nematicides in integrated nematode management strategies. **Egyptian Journal of Biological Pest Control** 28(1):74. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s41938-018-0080-x>
- Adang MJ, Crickmore N, Jurat-Fuentes JL (2014) Diversity of *Bacillus thuringiensis* crystal toxins and mechanism of action. In: Dhadialla TS, Gill SS (org.). **Insect midgut and insecticidal proteins**. 47. ed. Academic Press Inc., p. 39–87. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800197-4.00002-6>
- Ali MA, Azeem F, Abbas A, Joyia FA, Li H, Dababat AA (2017) Transgenic strategies for enhancement of nematode resistance in plants. **Frontiers in Plant Science** 8. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00750>
- Askary TH, Martinelli PP (2015) **Biocontrol agents of phytonematodes**. London: CAB International. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Azizoglu U (2019) *Bacillus thuringiensis* as a biofertilizer and biostimulator: a mini-review of the little-known plant growth-promoting properties of Bt. **Current Microbiology** 76(11):1379–1385. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01705-9>
- Bonetti JI, Ferraz S (1981) Modificações do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* em raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira** 6:553.
- Castillo JD, Lawrence KS, Kloepper J (2013) Biocontrol of the reniform nematode by *Bacillus firmus* GB-126 and *Paecilomyces lilacinus* 251 on cotton. **Plant Disease** 97(7):967-976. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-10-12-0978-RE>
- Chen SY, Dickson DW (2000) A technique for determining live second-stage juveniles of *Heterodera glycines*. **Journal of Nematology** 32(1):117–121.
- Chitwood BG (1949) “**Root-knot nematodes**”. **Part 1. A revision of the genus *Meloidogyne* Goeldi**. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 16(2):90–114.

CONAB (2022) **Acompanhamento da Safra Brasileira - Grãos - Safra 2021/22, n.12 - Décimo segundo levantamento**. Brasília - DF: Companhia Nacional de Abastecimento, v. 9.

Eisenback JD, Hirschmann H (1981) Identification of *Meloidogyne* species on the basis of head shape and, stylet morphology of the male. **Journal of nematology** 13(4):513–21.

Elkoca E, Kantar F, Sahin F (2007) Influence of nitrogen fixing and phosphorus solubilizing bacteria on the nodulation, plant growth, and yield of chickpea. **Faik Kantar & Fikrettin Sahin** 31(1):157–171. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/01904160701742097>

Erban T, Nesvorna M, Erbanova M, Hubert J (2009) *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* control of synanthropic mites (Acari: Acaridida) under laboratory conditions. **Experimental and Applied Acarology** 49(4):339–346. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/S10493-009-9265-Z/TABLES/2>. Acesso em: 1 jan. 2023.

Esbenshade PR, Triantaphyllou AC (1985) Use of enzyme phenotypes for identification of *Meloidogyne* Species. **Journal of Nematology** 17(1):6–20. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19294051/>. Acesso em: 1 jan. 2023.

Gastwirth JL, Gel YR, Miao W (2009) The Impact of levene's test of equality of variances on statistical theory and practice. **Statistical Science** 24(3):343–360. Disponível em: <https://doi.org/10.1214/09-STS301>

Glick BR (2020) Biocontrol of insects and nematodes. In: Glick BR (org.). **Beneficial Plant-Bacterial Interactions**. Second Edi ed. Cham: Springer International Publishing, p. 231–256. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-3-030-44368-9_7

Hair J, Anderson R, Tatham R, Black W (2005) **Análise multivariada de dados**. Porto Alegre: Bookman, 2005.

Hawkins DM, Weisberg S (2017) Combining the box-cox power and generalised log transformations to accommodate nonpositive responses in linear and mixed-effects linear models. **South African Statistical Journal** 51(2):317–328. Disponível em: <https://doi.org/doi/10.10520/EJC-bd05f9440>

- Huang M, Bulut A, Shrestha B, Matera C, Grundler FMW, Schleker ASS (2021) *Bacillus firmus* I-1582 promotes plant growth and impairs infection and development of the cyst nematode *Heterodera schachtii* over two generations. **Scientific Reports** 11(1):14114. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-93567-0>
- Hussey SR, Baker KR (1973) A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. **Plant Disease Reporter** 57:1025–1028.
- Jones JT, Haegeman A, Danchin EGJ et al. (2013) Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. **Molecular plant pathology** 14(9):946–61. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/mpp.12057>.
- Kahn TW, Duck NB, McCarville MT, Schouten LC, Schweri K, Zaitseva J, Daum J (2021) A *Bacillus thuringiensis* Cry protein controls soybean cyst nematode in transgenic soybean plants. **Nature Communications** 12(1):1–12. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23743-3>.
- Kaiser HF (1958) The varimax criterion for analytic rotation in factor analysis. **Psychometrika** 23(3):187–200. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF02289233>
- Liu K, Garrett C, Fadamiro H, Kloepper JW (2016) Induction of systemic resistance in Chinese cabbage against black rot by plant growth-promoting rhizobacteria. **Biological Control** 99:8–13. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.04.007>
- Mhatre PH, Karthik C, Kadirvelu K, Divya KL, Venkatasalam EP, Srinivasan S, Ramkumar G, Saranya C, Shanmuganathan R (2019) Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A potential alternative tool for nematodes bio-control. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology** 17:119–128. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2018.11.009>
- Miljaković D, Marinković J, Balešević-Tubić S (2020) The Significance of *Bacillus* spp. in Disease Suppression and Growth Promotion of Field and Vegetable Crops. **Microorganisms** 8(7):1037. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS8071037>.
- Nascimento DD, Rodrigues M, Ferreira RJ, Marchioro V, Silva EM da, Silva Junior CA, Kupper KC, Polanczyk RA, Soares PLM (2022) Soybean growth-promotion and

Heterodera glycines suppression in two application methods of Bacillus strains. **Biological Control** 175:105039. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/J.BIOCONTROL.2022.105039>.

Netscher C, Taylor DP (1974) An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. **Nematologica** 20(12):268–269. Disponível em: <https://doi.org/https://doi.org/10.1163/187529274X00285>

Park YG, Mun BG, Kang SM et al. (2017) *Bacillus aryabhatai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones. **Plos One** 12(3):e0173203. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0173203>

Polanczyk RA, Nascimento J do, Freitas MM, Nascimento DD (2022) Manejo de Pragas com Bactérias Entomopatogênicas. In: Meyer MC, Bueno A de F, Mazaró SM, Silva JC da (org.). **Bioinsumos na Cultura da Soja**. Brasília, DF: Embrapa, v. 1, p. 361–376. E-book. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/360814291_Manejo_de_pragas_com_bacterias_entomopatogenicas

R Core Team (2020) R: **A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria.

Ravari SB, Moghaddam EM (2015) Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Cry14 toxin against root knot nematode, *Meloidogyne javanica*. **Plant Protection Science** 51(1):46–51. Disponível em: <https://doi.org/10.17221/93/2013-pps>

Royston P (1995) Remark AS R94: A Remark on Algorithm AS 181: The W-test for Normality. **Applied Statistics** 44(4):547. Disponível em: <https://doi.org/10.2307/2986146>

Jouzani GS, Seifinejad A, Saeedizadeh A, et al., (2008) Molecular detection of nematocidal crystalliferous *Bacillus thuringiensis* strains of Iran and evaluation of their toxicity on free-living and plant-parasitic nematodes. **Canadian Journal of Microbiology** 54(10):812–822. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/W08-074>

Shi J, Peng D, Zhang F, Ruan L, Sun M (2020) The *Caenorhabditis elegans* CUB-like-domain containing protein RBT-1 functions as a receptor for *Bacillus thuringiensis*

Cry6Aa toxin. **PLOS Pathogens** 16(5):1–20. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008501>

Soares PLM, Nascimento DD (2021) Integrated nematode management of root lesion and root-knot nematodes in soybean in Brazil. In: **Integrated nematode management: state-of-the-art and visions for the future**. Wallingford: CABI, p. 103–110. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/9781789247541.0015>

Soares PLM, Nascimento DD do, Vidal RL, Vizentini LR (2017) Controle biológico de nematoides. In: **Inovações em manejo fitossanitário**. Botucatu: Fundação de Estudos e Pesquisas Agrícolas e Florestais, p. 167–189.

Wellman-Desbiens É, Lucas É, Côté JC (2011) Screening of the nematicidal activity and sub-lethal effects of the bacterium *Bacillus thuringiensis* on the model nematode *Caenorhabditis elegans*. **International Journal of Nematology** 21(2):169–180. Disponível em: <http://www.laboluttebio.uqam.ca/wordpress/wp-content/uploads/2017/08/PUBLI-SCI-49-2011-WellmanDesbiens-Lucas-Cote.pdf>.

Xiang N, Lawrence KS, Donald PA (2018) Biological control potential of plant growth-promoting rhizobacteria suppression of *Meloidogyne incognita* on cotton and *Heterodera glycines* on soybean: A review. **Journal of Phytopathology** 166(7–8):449–458. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jph.12712>

Yu Z, Xiong J, Zhou Q, Luo H, Hu S, Xia L, Sun M, Li L, Yu Z (2015) The diverse nematicidal properties and biocontrol efficacy of *Bacillus thuringiensis* Cry6A against the root-knot nematode *Meloidogyne hapla*. **Journal of Invertebrate Pathology** 125:73–80. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2014.12.011>

Zhang F, Peng D, Ye X, Yu Z, Hu Z, Ruan L, Sun M (2012) In Vitro Uptake of 140 kDa *Bacillus thuringiensis* Nematicidal Crystal Proteins by the Second Stage Juvenile of *Meloidogyne hapla*. **PLoS ONE** 7(6):e38534. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038534>

CAPÍTULO 3 – ISOLADOS DE *Bacillus thuringiensis* REDUZEM NEMATOIDES E AUMENTAM A PRODUTIVIDADE DA SOJA

RESUMO - A soja é a oleaginosa de maior importância mundial e o Brasil é o maior produtor e exportador desse grão. Muitos fatores limitam a produtividade da cultura, dentre eles os fitonematoides. A demanda mundial por sustentabilidade somada a eficiência de controle, tem impulsionado o desenvolvimento de bioinsumos para o manejo desses vermes. *Bacillus thuringiensis* é um bioinseticida conhecido principalmente devido à síntese de uma grande diversidade de proteínas tóxicas. Algumas dessas toxinas já foram reportadas como tóxicas a nematoides, entretanto, o uso de *B. thuringiensis* para o controle nematoides ainda é incipiente. Portanto, esse trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência dos isolados de *B. thuringiensis*, Bt 04 (*Bacillus thuringiensis indiana*); Bt 34 (*B. thuringiensis dendrolimus* T04 A001); Bt48 (*B. thuringiensis monterrey*) e Bt 102 (Br 52 – solo) na redução de nematoides, no desenvolvimento e produtividade da cultura da soja cv. NA 5909 RG. Além dos isolados, também foram incluídos como tratamentos, dois produtos comerciais registrados Avicta® (abamectina) e Presence® (*B. subtilis* e *B. licheniformis*) e controles. Para isso, foram conduzidos experimentos em casa de vegetação, com as espécies de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines*, e em campo naturalmente infestado com *M. javanica*, *M. incognita*, *H. glycines* e *Pratylenchus brachyurus*. Os quatro isolados avaliados (Bt 04, Bt 34, Bt 48 e Bt 102) mostraram potencial na supressão de nematoides. Bt 34 e Bt 102 mantiveram resultados consistentes na supressão das espécies de *Meloidogyne* e *Heterodera* ao longo dos experimentos, sendo *H. glycines* mais suscetível aos efeitos de *B. thuringiensis*. Em casa de vegetação, Bt 34 e Bt 102, reduziram até 49,2% da população de ovos e J2 de *H. glycines*. Em campo, o Bt 102 reduziu em média 55,4% a quantidade de cistos viáveis, além disso, os isolados Bt 102, Bt 34, Bt 48, resultaram em incremento de até 11,2 sacas/ha (672kg/ha) comparado ao controle em condições de campo.

Palavras-chave: *Bacillus thuringiensis*, Fitonematoides, *Glycine max*, Soja, Controle biológico

***Bacillus thuringiensis* ISOLATES REDUCE NEMATODES AND INCREASE SOYBEAN PRODUCTIVITY**

ABSTRACT – Soybean is the most globally significant oilseed, and Brazil is the largest producer and exporter of this crop. Despite the growth in production, various factors limit crop productivity, including nematodes. Global demand for sustainability, combined with control efficiency, has driven the development of bioinputs for managing these worms. *Bacillus thuringiensis* is one of the main agents for biological control of lepidopteran larvae, primarily due to its synthesis of a wide range of toxic proteins. Some of these toxins have been reported to be toxic to nematodes, however, the use of *B. thuringiensis* for nematode control is still in the beginning. Therefore, this study aimed to evaluate the efficiency of *B. thuringiensis* isolates, Bt 04 (*B. thuringiensis indiana*), Bt 34 (*B. thuringiensis dendrolimus* T04 A001), Bt 48 (*B. thuringiensis monterrey*), and Bt 102 (Br 52 – soil), in suppressing nematodes and influencing the development and yield of soybean cv. NA 5909 RG. In addition to the isolates, two registered commercial products Avicta® (abamectina) and Presence® (*B. subtilis* and *B. licheniformis*) and controls were included as treatments. To achieve this, experiments were conducted in a greenhouse with the species *Meloidogyne javanica* and *Heterodera glycines* and in naturally infested field conditions with *M. javanica*, *M. incognita*, *H. glycines*, and *Pratylenchus brachyurus*. The four evaluated isolates (Bt 04, Bt 34, Bt 48, and Bt 102) showed potential in nematode suppression. Bt 34 and Bt 102 consistently maintained results in suppressing *Meloidogyne* and *Heterodera* species throughout the experiments, with *H. glycines* being more susceptible to the effects of *B. thuringiensis*. In greenhouse conditions, Bt 34 and Bt 102 reduced up to 49.2% of *H. glycines* eggs and J2 population. In the field, Bt 102 averaged a 55.4% reduction in viable cysts, and, moreover, isolates Bt 102, Bt 34, and Bt 48 resulted in an increase of up to 11.2 bags/ha compared to the control under field conditions.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, Phytonematodes, *Glycine max*, Soybean, Biological control

1. INTRODUÇÃO

O Brasil é o maior produtor e exportador de soja do mundo e à medida que há expansão de áreas cultivadas de soja, há também o surgimento e disseminação de problemas fitossanitários que acometem a cultura. Dentre eles destacam-se os nematoides. Nematoides são vermes microscópicos que habitam o solo e se alimentam das raízes e de outras partes das plantas (Sikora et al., 2021). Dentre as espécies de nematoides que parasitam a cultura da soja, destacam-se os nematoides de cisto e de galha, como os mais agressivos à cultura.

Nematoides parasitos de plantas causam perdas severas em uma ampla gama de hospedeiras e culturas agrícolas em todo o mundo. O levantamento mais recente aponta 4,1 mil espécies de nematoides já descritas como parasitos de plantas (Decraemer e Hunt, 2006). Os danos causados por fitonematoides foram estimados em aproximadamente US\$ 215,77 bilhões ao ano, com mais da metade causada por espécies de nematoides de galha e de cisto (Abd-Elgawad e Askary, 2015).

A maioria dos fitonematoides são patógenos radiculares do solo que impedem a absorção normal de nutrientes e água pela planta, além de favorecerem a ação de outros patógenos radiculares (Soares e Nascimento, 2021). Em escala mundial, mais de 100 espécies de nematoides de 50 diferentes gêneros já foram relatados na cultura de soja (Brida et al., 2016).

No Brasil, os nematoides mais prejudiciais à cultura são os formadores de galhas (*Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*), o de cisto da soja (*Heterodera glycines*), o das lesões radiculares (*Pratylenchus brachyurus*), o reniforme (*Rotylenchulus reniformis*) e o nematoide das partes aéreas (*Aphelenchoides besseyi*) (Dias et al., 2010; Meyer et al., 2017; Sikora et al., 2021).

Heterodera glycines se caracteriza pela diversidade de raças e capacidade de formação de cisto, estrutura de resistência que pode manter os ovos viáveis por até 8 anos no solo (Ferraz; Brown, 2016), enquanto *Meloidogyne* spp. é altamente polífago, dificultando a rotação de culturas (Ferraz; Brown, 2016). Dentre as medidas de manejo mais adotadas para esses nematoides estão, o uso de cultivares resistentes, rotação de culturas e o tratamento de sementes com nematicidas, podendo ser químicos ou biológicos (Soares e Nascimento, 2021).

O controle biológico tem estimativa de crescimento de 35% até 2025 e de 25% até 2030 no Brasil (Borsari e Vieira, 2022). Ainda, cerca de 61% dos produtos biológicos utilizados na cultura da soja no país, são direcionados ao controle de nematoides (AGROFIT, 2023). O número de bionematicidas registrados já supera a quantidade de produtos químicos para a cultura da soja (AGROFIT, 2023). O crescimento desse mercado demonstra a eficiência desse método no manejo de nematoides somada a aceitabilidade do produtor no uso da tecnologia.

Apesar do tamanho do mercado de bionematicidas, os produtos registrados ainda se baseiam em poucos agentes, espécies e com modos de ação semelhantes, tais como *Bacillus subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. firmus*, *B. licheniformis*, além de fungos como *Trichoderma* spp., *Pochonia chlamydosporia* e *Purpureocillium lilacinus* (Dias-Arieira et al., 2022). *Bacillus thuringiensis* é reconhecido como um dos principais agentes de controle biológico de insetos, apresentando uma grande gama de toxinas (Polanczyk et al., 2022), incluindo toxinas nematoide-específicas (Wei et al., 2003), no entanto ainda pouco explorado como bionematicida.

Dentre as propriedades nematicidas já reladas para *B. thuringiensis* é possível citar: Produção das toxinas Cry5, Cry6, Cry13, Cry14, Cry21 e Cry55, além de antibióticos, enterotoxinas, hemolisinas e proteases (Ravari e Moghaddam, 2015; Garsin et al., 2001; Höss et al., 2008; Latsenko et al., 2014; Jouzani et al., 2008; Wei et al., 2003; Yang et al., 2013; Zhang et al., 2012; Zhou et al., 2014).

A utilização de práticas sustentáveis que mitigam os danos ao meio ambiente tem sido cada vez mais exigida pela comunidade internacional. O controle biológico é uma ferramenta de grande importância, nesse âmbito, visto que não impactam o ambiente tal como produtos químicos e resultam na redução de perdas na produção das culturas (Soares et al., 2017). Desenvolver ferramentas de biocontrole de pragas, doenças e nematoides pode contribuir significativamente para a redução do impacto ambiental, e está alinhado em ao menos nove dos dezessete objetivos de desenvolvimento sustentável segundo a ONU (United Nations, 2023).

Além disso, assim como as mudanças climáticas podem alterar a dinâmica de pragas, doenças e nematoides, elas também podem afetar a interação entre microrganismos benéficos e plantas, bem como sua eficiência de controle (Bastías et

al., 2023; Compant et al., 2010), o que ressalta a necessidade constante de seleção de microrganismos adaptados a cada condição.

2. OBJETIVO

O objetivo desse trabalho foi avaliar a eficiência de 4 isolados de *B. thuringiensis* (Bt 04 (*B. thuringiensis indiana*); Bt 34 (*B. thuringiensis dendrolimus* T04 A001); Bt48 (*B. thuringiensis monterrey*) e Bt 102 (Br 52 – solo)) na supressão de nematoides e seus efeitos no desenvolvimento e produtividade da cultura da soja cv. NA 5909 RG.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para avaliar a eficiência dos isolados Bt, os experimentos foram conduzidos em dois ambientes distintos, casa de vegetação e campo. A cultivar de soja adotada em ambos os experimentos foi a cv. NA 5909 RG. Nas duas condições foram avaliados os mesmos tratamentos, exceto para o tratamento controle não inoculado com nematoide, conforme apresentado na Tabela 1.

3.1. Origem e cultivo dos isolados de *Bacillus thuringiensis*

Os quatro isolados avaliados neste estudo foram selecionados com base em ensaios nematológicos prévios, a partir de um grupo de 84 isolados, disponível para consulta no capítulo 2 desse trabalho.

Para a realização dos experimentos, os isolados foram recuperados a partir da cultura estoque e cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura Luria Bertani — LB, com a inclusão de sais sólidos. Este meio de cultura apresentou a seguinte composição: glicose (1 g), caldo nutritivo (8 g), extrato de levedura (5 g), triptona (10 g), NaCl (5 g), MgSO₄ (0,3 g), FeSO₄ (0,02 g), ZnSO₄ (0,02 g), MnSO₄ (0,02 g) e ágar bacteriológico (15 g). O volume total foi ajustado para 1 litro utilizando água destilada e deionizada, e o pH do meio foi padronizado para 7,5 através da adição de NaOH (3 M). Para a confirmação da identidade dos isolados como *B. thuringiensis*,

procedeu-se à caracterização morfológica, envolvendo a observação de células vegetativas, esporos e cristais sob microscopia óptica com contraste de fase (1.000x).

Para a formulação da suspensão bacteriana utilizada nos ensaios, cada isolado foi cultivado em placas de Petri com meio LB enriquecido de sais e, após 72 horas, o conteúdo bacteriano da placa de Petri foi transferido, com auxílio de alça de platina, para tubos Falcon com 20,0 mL de capacidade contendo 10 mL de água deionizada autoclavada. O conteúdo do tubo foi homogeneizado com o auxílio de agitador para tubo tipo vórtex até a completa dissolução do pélete. A suspensão resultante foi observada em câmara de Neubauer e ajustada para a concentração de 3E+10 esporos/mL. Após ajustada, as suspensões foram mantidas sob refrigeração a ~8 °C no escuro, por 24 horas, momento em que foi realizado o tratamento de sementes da soja.

Tabela 1. Tratamentos utilizados nos experimentos conduzidos com soja cv. NA 5909 RG em casa de vegetação e campo, safra 2021/22. Jaboticabal e Guaíra, SP.

Tratamento	Descrição	Concentração	Dose (100kg de sementes)
Controle	Controle com nematoides	---	---
Bt 04	<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>indiana</i>	3E+10 esporos/mL	150 mL
Bt 34	<i>B. thuringiensis dendrolimus</i> T04 A001	3E+10 esporos/mL	150 mL
Bt 48	<i>B. thuringiensis monterrey</i>	3E+10 esporos/mL	150 mL
Bt 102	<i>B. thuringiensis</i> Br 52 – solo	3E+10 esporos/mL	150 mL
Presence®	<i>B. subtilis</i> e <i>B. licheniformis</i>	1E+11 UFC/g	150 g
Avicta 500 FS®	abamectina	500,0 g/L	125 mL
Controle n/ inoculado*	Controle não tratado e não inoculado com nematoides	---	---

*Controle não inoculado utilizado apenas nos experimentos em casa de vegetação.

3.2. Experimento em casa de vegetação

Os experimentos foram conduzidos no período de dezembro de 2021 a abril de 2022, em condições de casa de vegetação, do LabNema (Laboratório de

Nematologia), no Departamento de Ciências da Produção Agrícola (Fitossanidade), da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (FCAV), Universidade Estadual Paulista, Júlio de Mesquita Filho, Câmpus de Jaboticabal, São Paulo, Brasil (21°14'27.8"S 48°17'20.1"W). A temperatura no período foi: máxima de 30,4 °C; mínima de 19,2 °C; média de 23,86 °C.

Em experimentos distintos, os efeitos dos tratamentos foram avaliados para duas espécies de nematoides, *M. javanica* e *H. glycines*. Além disso, os ensaios foram conduzidos em duplicata, com intervalo de 30 dias entre as datas de implantação. A aplicação dos produtos foi realizada via tratamento de sementes da soja, que foi conduzida até a fase de senescência da cultura.

3.2.1. Origem e manipulação das populações de *Meloidogyne javanica* e *Heterodera glycines*

A população original de *M. javanica* foi obtida a partir de raízes naturalmente infectadas de quiabeiro, no município de Piacatu, SP. A identificação da espécie de *M. javanica* foi realizada com base em características morfológicas da região perineal das fêmeas (Taylor e Netscher, 1974), da região labial dos machos (Eisenback e Hirschmann, 1981), e por meio de fenotipagem isoenzimática para esterase (Esbenshade e Triantaphyllou, 1985).

A população de *M. javanica* foi mantida em plantas de tomateiro do tipo 'Santa Cruz Kada' e quiabeiro 'Santa Cruz 47', cultivadas em casa de vegetação no Laboratório de Nematologia (LabNema) até a véspera da instalação do experimento. A extração dos nematoides das raízes foi realizada no LabNema, sob trituração das raízes com hipoclorito de sódio (NaOCl) a 0,5% (Boneti e Ferraz, 1981), seguido de flutuação em centrífuga em solução de sacarose (Coolen e D'herde, 1972).

A população original de *H. glycines* foi coletada em raízes de soja naturalmente infestadas na região de Guaíra, SP. A identificação da espécie *H. glycines* foi realizada com base na análise de caracteres morfológicos de fêmeas adultas, comparando-as com as descrições detalhadas por Burrows e Stone (1985). A população de NCS obtida foi posteriormente mantida em plantas de soja cultivadas em casa de vegetação no LabNema até a véspera da instalação do experimento.

Ovos e J2 de *H. glycines* foram extraídos das raízes conforme Coolen e D'Herde (1972). Os cistos de NCS foram extraídos seguindo a metodologia proposta por Shepherd (1986). Todas as populações de nematoides foram estimadas com o auxílio de câmara de Peters em microscópio óptico.

3.2.2. Desenho e instalação do experimento em casa de vegetação

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado (DIC) em vasos, preenchidos com substrato autoclavado, composto por areia, terra e esterco bovino na proporção de 4:1:1. O substrato foi preparado e autoclavado por duas horas a ~127 °C e pressão de $\pm 1,5$ kgf.cm². Foram utilizados vasos de polietileno, com capacidade para 10 litros, para o experimento com *M. javanica*, enquanto para *H. glycines*, utilizou-se vasos de cerâmica, com capacidade para 8 litros.

A suspensão bacteriana de cada isolado com 24 horas a partir do preparo, foi inoculada em 50 g de sementes de soja, nas concentrações e doses conforme apresentado na Tabela 1. Abamectina (Avicta 500 FS[®]) e *Bacillus subtilis* FMCH002(DSM32155) + *Bacillus licheniformis* FMCH001(DSM32154) (Presence[®]) foram utilizados com comparativos comerciais. Além disso, foram incluídos dois tratamentos controle, com e sem a inoculação de nematoides.

Após o tratamento, as sementes foram semeadas nos vasos em até duas horas. Em cada vaso, foram semeadas 6 sementes de soja e, após 12 dias, as duas plantas menos vigorosas de cada vaso foram descartadas. As plantas remanescentes foram inoculadas individualmente com 5 mL de suspensão, contendo 5 mil ovos e J2 de cada espécie de nematoide.

Quatro plantas de tomateiro 'Santa Cruz Kada' foram inoculadas para verificar a viabilidade do inóculo de *M. javanica*. Após a inoculação, palha de gramado foi depositada, recobrindo o solo dos vasos, visando a conservação da umidade e temperatura. Cada tratamento contou inicialmente com 10 vasos, com 4 plantas cada. Cada planta foi considerada uma unidade experimental. A soja foi mantida sob irrigação manual, de acordo com a demanda hídrica. Os tratos culturais, como o controle de pragas e doenças, foram realizados conforme a demanda da cultura.

3.2.3. Avaliações do experimento em casa de vegetação

Aos 12 dias após a semeadura (DAS) foi realizada a avaliação de emergência (%), sendo considerada as plântulas de soja completamente emergidas por tratamento. Aos 42 e 82 dias após a semeadura da soja, 3 vasos de cada tratamento foram retirados para avaliações destrutivas. Em cada planta do vaso foram medidas a altura até a última gema apical (altura; cm), massa fresca das partes aéreas (MFPA, g), diâmetro do caule, na altura da base (diâmetro, mm) e massa fresca das raízes (MFR).

As raízes foram separadas das partes aéreas e armazenadas em câmara fria (8-10 °C) por até 15 dias, até o momento da extração dos nematoides. Anteriormente à extração, as raízes foram cuidadosamente lavadas em água parada, retirando-se o excesso de solo, para então ser avaliada a massa fresca das raízes (MFR). As extrações dos nematoides das raízes foram realizadas conforme a metodologia supracitada para cada espécie, e a população final dos nematoides estimada em câmara de Peters com auxílio de um microscópio óptico. Foram estimados a quantidade de ovos e J2 e, com isso, obteve-se também a quantidade de ovos + J2 e ovos + J2 / g de raízes. No experimento com *H. glycines*, também foram coletadas amostras de solo de cada vaso para a estimativa do número de cistos viáveis e inviáveis, conforme metodologia supracitada.

A produtividade da soja foi avaliada aos 110 DAS, época em que atingiu a maturidade fisiológica da cultura. Para isso, as plantas contidas nos 4 vasos restantes de cada tratamento foram individualmente debulhadas e os grãos obtidos foram pesados. Com isso, foi estimada a produtividade em sacas/ha (saca = 60 kg), considerando um estande de 300 mil plantas por hectare, conforme recomendado para a cultivar.

3.3. Experimento em campo

O experimento foi conduzido no período de novembro de 2021 a fevereiro de 2022, em condições de campo, na Fazenda Barcelona, Município de Guaíra, São Paulo, Brasil (20°27'17.1"S 48°19'05.4"W). A temperatura no período foi: máxima de

30,65 °C; mínima de 19,66 °C; média de 25,16 °C. A precipitação mensal média do período foi de 85,5 mm.

O local de realização do experimento foi escolhido com base no histórico de alta infestação de nematoides, com predominância de *H. glycines*, *M. javanica*, *M. incognita* e *P. brachyurus*. A espécie do nematoide das lesões radiculares (*P. brachyurus*) foi identificada por meio dos caracteres morfológicos de fêmeas adultas, com base em chave taxonômica proposta por Castillo e Vovlas (2007). As demais espécies tiveram a identidade confirmada conforme descrito na sessão 3.2.1. desde capítulo.

3.3.1. Desenho e instalação do experimento em campo

O experimento foi conduzido em Delineamento em Blocos Casualizados (DBC), com 7 tratamentos e 6 blocos (repetições). A soja foi tratada 12 horas antes da semeadura, conforme Tabela 1, e mantida sob condições refrigeradas a ~8°C no escuro até a utilização. O plantio foi realizado sobre área previamente semeada de soja. A soja em estágio V2, semeada pelo produtor, foi desbastada e um novo sulco de semeadura foi aberto, seguindo a linha de plantio, de modo a reutilizar a adubação e o alinhamento conforme realizado previamente pelo produtor. Cada parcela foi composta por 4 linhas, com 6 m de comprimento e espaçamento de 0,5 m entre linhas, compreendendo 12 m² por parcela. A semeadura foi realizada manualmente, de forma a depositar 16 sementes por metro linear.

3.3.2. Avaliações do experimento em campo

Foram realizadas avaliações de emergência (12 dias após a semeadura (DAS), de desenvolvimento vegetal (aos 42 DAS e 82 DAS) e de produtividade (aos 110 DAS). Para a avaliação de emergência, foram quantificadas as plantas emergidas por linha e, então, calculado o percentual de plantas emergidas/m linear para cada parcela. Para as avaliações de desenvolvimento vegetal, em cada planta foi medido a MFPA (N=12; g), MFR (N=12; g), Altura da planta (N=30; cm) e Diâmetro do caule (N=30; mm).

As avaliações nematológicas foram realizadas coletando-se das duas linhas laterais de cada parcela, 3 subamostras. Em cada ponto, foram coletadas de duas a três plantas, além do solo e raízes na profundidade de 0-20cm, com o auxílio de uma pá de corte. As 3 subamostras formaram uma amostra composta, da qual, foram avaliados a população de nematoides em 10 g de raízes e em 100 cm³ de solo. O material coletado no campo foi armazenado em sacos plásticos, devidamente identificados e encaminhados para o LabNema. Todo o material foi armazenado sob resfriamento a ~8°C por até 15 dias para a avaliação.

Os nematoides foram extraídos do solo e raízes, e observados em câmara de Peters para identificação e quantificação. As extrações e quantificações dos nematoides foram realizadas conforme descrito na sessão 3.2.1. Foram estimados o número de ovos, J2 (juvenis de segundo estágio) e a soma ovos + J2 para cada espécie de nematoide, além disso, foi calculado o somatório total de ovos e J2 das diferentes espécies para cada época em solo e raízes. Para *H. glycines*, também foi quantificado o número de cistos viáveis e inviáveis em 100 cm³ solo.

3.4. Análise de dados dos experimentos

Para a análise estatística, os dados foram submetidos ao teste de normalidade dos resíduos (Shapiro-Wilk a 5% de significância) e homogeneidade de variâncias (ONeill e Mathews a 5% de significância). Uma análise exploratória também foi realizada visando a identificação e remoção de possíveis “outliers”. Também, quando necessário, os dados foram transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$, no caso de variáveis nematológicas e $\text{Log}(x + 0,5)$, em caso de variáveis de desenvolvimento vegetal e produtividade. Em casos de transformação dos dados, foram apresentadas as médias originais. Com os pressupostos atendidos, os dados foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey, a 10% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas no software R Core Team (2020).

4. RESULTADOS

4.1. Experimento em casa de vegetação

No experimento em casa de vegetação foi avaliado os efeitos dos tratamentos com *B. thuringiensis* aos 42 e 82 DAS para as espécies de *M. javanica* e *H. glycines*. Aos 42 DAS, observou-se que os tratamentos não apresentaram efeito significativo na supressão de *M. javanica*, seja para ovos, J2, ovos + J2 e ovos + J2/g de raízes (Tabela 2). No entanto, para *H. glycines*, observou-se que os tratamentos Bt 34, reduziu a população comparado ao Bt 48, mas não se diferenciou dos demais, incluindo o Presence® (P=0,0469) (Tabela 3). Para J2, o isolado Bt 04 e Controle c/ Hg foram os que apresentaram os maiores valores, diferindo do tratamento Presence® (P=0,024). Para as variáveis ovos + J2, ovos + J2 / g de raízes e cistos, não foram detectadas diferenças.

Tabela 2. Parâmetros populacionais de *Meloidogyne javanica* em soja cv. NA 5909 RG aos 42 dias após semeadura (DAS) sob diferentes tratamentos de sementes em condições de casa de vegetação. Jaboticabal SP, safra 2021/22.

<i>Meloidogyne javanica</i> - 42 DAS				
Tratamento	Ovos	J2	Ovos + J2	Ovos + J2/g de raízes
Avicta®	367	72	430	4
Bt04	349	81	426	4
Bt34	335	75	425	4
Bt48	394	72	455	3
Bt102	337	79	406	3
Controle c/ Mj	411	95	510	4
Presence®	333	64	392	3
P valor	0,987	0,414	0,985	0,978
CV %	52,3	43,7	47,2	44,9

* Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação. FR obtido no padrão de inóculo tomateiro 'Santa Cruz Kada' = 1,1.

Tabela 3. Parâmetros populacionais de *Heterodera glycines* em soja cv. NA 5909 RG aos 42 dias após semeadura (DAS) sob diferentes tratamentos de sementes em condições de casa de vegetação. Jaboticabal SP, safra 2021/22.

<i>Heterodera glycines</i> – 42 DAS							
Tratamento	Ovos	J2	Ovos + J2	Ovos + J2/g de raízes	Cistos		
Avicta®	392	ab	123	ab	600	33	118
Bt04	246	ab	207	a	453	25	91
Bt34	193	b	162	ab	412	23	120
Bt48	527	a	162	ab	709	46	93
Bt102	372	ab	172	ab	543	32	162
Controle c/ Hg	328	ab	208	a	649	50	126
Presence®	169	b	98	b	399	22	82
P valor	0,0469		0,024		0,428	0,104	0,162
CV %	46,9		34,0		39,2	40,2	46,1

* Dados transformados em $\sqrt{x + 0,5}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação.

Nos tratamentos avaliados aos 82 DAS, foi observado diferença nas variáveis ovos e ovos + J2/g de raízes entre os tratamentos testados para a supressão de *M. javanica* (Tabela 4). Tanto para ovos (P=0,051) quanto para ovos + J2/g de raízes (P=0,094), observou-se que o tratamento Bt 34 foi o que apresentou maiores reduções populacionais, comparado à testemunha. Os demais tratamentos não apresentaram diferença para J2 e ovos + J2 de *M. javanica*.

Para *H. glycines*, observou-se que os tratamentos Bt 04, Bt 34, Bt 48 e Bt 102, apresentaram menor número de ovos comparados a testemunha (P=0,002), reduzindo em até 49,1% a média de ovos (Tabela 5). O tratamento Bt 102, com a menor média, também se diferenciou do tratamento Avicta® para essa variável. Também foi verificado diferença na soma ovos + J2 e ovos + J2/ g de raízes, em que os tratamentos Bt 34 e Bt 102 apresentaram menores médias comparados a testemunha, com redução de até 36,8 e 49,2% da população, respectivamente (P=0,027). Não foram verificadas diferenças entre as médias de J2 e de cistos.

Tabela 4. Parâmetros populacionais de *Meloidogyne javanica* em soja cv. NA 5909 RG aos 82 dias após semeadura (DAS) sob diferentes tratamentos de sementes em condições de casa de vegetação. Jaboticabal SP, safra 2021/22.

<i>Meloidogyne javanica</i> – 82 DAS						
Tratamento	Ovos		J2	Ovos + J2	Ovos + J2/g de raízes	
Avicta®	685	ab	140	824	66	ab
Bt04	513	ab	123	636	60	ab
Bt34	360	b	179	539	45	b
Bt48	810	ab	154	964	78	ab
Bt102	444	ab	121	564	52	ab
Controle c/ Mj	849	a	141	990	94	a
Presence®	667	ab	125	774	63	ab
P valor	0,051		0,944	0,156	0,094	
CV %	35,5		47,7	33,2	33,7	

* Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação. FR obtido no padrão de inóculo tomateiro ‘Santa Cruz Kada’ = 12,6.

Tabela 5. Parâmetros populacionais de *Heterodera glycines* em soja cv. NA 5909 RG aos 82 dias após semeadura (DAS) sob diferentes tratamentos de sementes em condições de casa de vegetação. Jaboticabal SP, safra 2021/22.

<i>Heterodera glycines</i> – 82 DAS								
Tratamento	Ovos		J2	Ovos + J2		Ovos + J2/g de raízes		Cistos
Avicta®	1322	ab	440	1761	ab	200	ab	507
Bt04	879	bc	527	1406	ab	164	ab	347
Bt34	883	bc	382	1265	b	128	b	340
Bt48	1122	abc	565	1687	ab	21	ab	513
Bt102	735	c	472	1207	b	134	b	328
Controle c/ Hg	1445	a	464	1909	a	252	a	476
Presence®	1272	ab	300	1571	ab	175	ab	506
P valor	0,002		0,407	0,027		0,003		0,852
CV %	25,2		34,8	20,8		24,0		72,6

* Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação.

Os efeitos dos tratamentos de sementes também foram avaliados nas características de desenvolvimento da soja nas diferentes épocas. No experimento com *M. javanica* aos 42 DAS (Tabela 6), observou-se que o tratamento Bt 102, proporcionou a maior emergência das plântulas de soja, comparado ao tratamento com Avicta[®], mas não se diferenciou dos demais tratamentos (P=0,059). Com relação à Altura das plantas, observou-se que as maiores médias foram observada nos tratamentos Bt 04 e Bt 34, diferindo-se dos tratamentos Presence[®] e Avicta[®], esses com as menores médias para essa variável. Não foram verificadas diferenças entre os tratamentos para as variáveis MFPA, MFR e Diâmetro.

Tabela 6. Parâmetros de emergência de plântulas aos 12 dias após semeadura (DAS) e de desenvolvimento vegetativo da soja cv. NA 5909 RG aos 42 dias após semeadura (DAS) sob diferentes tratamentos de sementes. A soja foi cultivada em vasos em casa de vegetação e inoculada com nematoide de galha. Jaboticabal SP, safra 2021/22. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si (Tukey, 10%).

<i>Meloidogyne javanica</i>							
Tratamento	12 DAS		42 DAS				
	Emergência (%)		Altura (cm)		MFPA (g)	MFR (g)	Diâmetro (mm)
Controle s/ Mj	90,8	ab	68,2	abc	36,7	15,6	6,2
Controle c/ Mj	87,5	ab	65,9	abc	38,9	15,0	5,8
Bt04	93,3	ab	74,5	a	33,3	12,4	5,9
Bt34	90,8	ab	72,2	a	31,4	17,3	5,9
Bt48	92,5	ab	71,3	ab	30,8	15,8	5,8
Bt102	95,0	a	65,0	abc	31,1	13,0	5,8
Presence [®]	86,7	ab	61,7	bc	31,8	16,6	6,0
Avicta [®]	81,7	b	59,8	c	34,5	16,1	5,8
P valor	0,059		<0,001		0,078	0,371	0,887
CV %	15,2		17,7		5,9	10,8	4,7

* Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação. MFPA = massa fresca de partes aéreas. MFR – massa fresca de raiz.

Aos 82 DAS, a soja inoculada com *M. javanica* (Tabela 7) não apresentou diferença entre os tratamentos para MFPA. No entanto, verificou-se que o tratamento

com Avicta[®], apresentou a menor média de Altura das plantas, comparado aos demais tratamentos (P<0,001). Para a variável MFR, observou-se menor média nos tratamentos Bt 48, enquanto as maiores médias foram verificadas nos tratamentos Bt 34 e Presence[®] (P=0,038). O Presence[®] também resultou na maior média para Diâmetro, diferindo-se do tratamento Bt 04 e Avicta[®] e controle c/ Mj (P=0,008). Com relação a Produtividade, houve destaque para o tratamento Bt 48, que apresentou a maior média, mas que não se diferenciou dos tratamentos Bt 04, Bt 34, Bt 102 e Avicta[®] (P=0,009). Em comparação à testemunha inoculada com *M. javanica*, Bt 48 produziu 12,8 sacas (768kg) a mais, o que corresponde a um aumento de 36,8%.

Tabela 7. Parâmetros de desenvolvimento vegetativo da soja cv. NA 5909 RG aos 82 dias após semeadura (DAS) sob diferentes tratamentos de sementes. A soja foi cultivada em vasos em casa de vegetação e inoculada com nematoide de galha. Jaboticabal SP, safra 2021/22.

<i>Meloidogyne javanica</i>									
Tratamento	82 DAS					112 DAS			
	Altura (cm)	MFPA (g)	MFR (g)	Diâmetro (mm)	Produtividade sacas/ha (kg/ha)				
Controle s/ Mj	72,3	a	37,5	17,5	ab	5,9	ab	31,5 (1890)	b
Controle c/ Mj	69,3	a	33,6	17,0	ab	5,8	b	34,8 (2088)	b
Bt04	69,3	a	37,7	17,5	ab	5,8	b	37,1 (2226)	ab
Bt34	75,8	a	39,2	20,6	a	6,2	ab	35,8 (2148)	ab
Bt48	71,0	a	36,1	14,6	b	6,2	ab	47,6 (2856)	a
Bt102	69,5	a	34,7	18,7	ab	6,0	ab	36,0 (2160)	b
Presence [®]	70,7	a	40,4	19,5	a	6,5	a	34,5 (2070)	b
Avicta [®]	59,1	b	34,8	15,9	ab	5,7	b	36,7 (2202)	ab
P valor	<0,001	0,294	0,038	0,008				0,009	
CV %	15,5	28,4	16,1	13,2				8,7	

* Dados transformados em Log(x + 0,5). As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação. MFPA = massa fresca de partes aéreas. MFR – massa fresca de raiz.

A emergência das plântulas não foi afetada pelos tratamentos realizados em soja inoculada com *H. glycines*. No entanto, aos 42 DAS (Tabela 8), verificou-se que

os tratamentos Bt 34, Bt 04, Bt 102 e Presence[®], apresentaram as maiores médias, diferindo-se do Avicta[®] (P<0,001). Com relação a MFPA, observou-se que Bt 34, Bt 102 e Presence[®] obtiveram as maiores médias, diferindo-se do tratamento Bt 48 (P=0,002). Com relação a MFR, o tratamento controle com Mj apresentou a menor média entre os tratamentos, exceto quando comparado com Bt 48 (P<0,001). Para a variável diâmetro, o tratamento Presence[®] apresentou a maior média, diferindo-se apenas da testemunha inoculada (P=0,091).

Tabela 8. Parâmetros de desenvolvimento vegetativo da soja cv. NA 5909 RG aos 82 dias após semeadura (DAS) sob diferentes tratamentos de sementes. A soja foi cultivada em vasos em casa de vegetação e inoculada com nematoide de cisto da soja. Jaboticabal SP, safra 2021/22.

<i>Heterodera glycines</i>									
Tratamento	10 DAS			42 DAS					
	Emergência (%)	Altura (cm)		MFPA (g)		MFR (g)		Diâmetro (mm)	
Controle s/ Hg	92,0	37,0	ab	36,7	ab	14,7	a	4,8	ab
Controle c/ Hg	90,8	37,0	ab	38,9	ab	12,2	b	4,5	b
Bt04	91,7	38,4	a	33,3	ab	14,2	a	4,7	ab
Bt34	93,7	38,3	a	31,4	a	14,4	a	5,1	ab
Bt48	91,8	37,3	ab	30,8	b	13,7	ab	4,8	ab
Bt102	95,8	37,9	a	31,1	a	14,5	a	5,1	ab
Presence [®]	94,2	38,3	a	31,8	a	14,3	a	5,6	a
Avicta [®]	89,2	36,2	b	34,5	ab	14,7	a	5,0	ab
P valor	0,605	<0,001		0,002		<0,001		0,091	
CV %	11,4	5,2		9,3		14,2		25,4	

* Dados transformados em Log(x + 0,5). As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação. MFPA = massa fresca de partes aéreas. MFR – massa fresca de raiz.

Aos 82 DAS (Tabela 9), na soja inoculada com *H. glycines*, verificou-se que na variável Altura, os tratamentos Bt 04, Bt 34, Bt 48 e Presence[®], apresentaram as maiores médias, diferindo-se do controle não inoculado e do Avicta[®] (P<0,001). O tratamento Bt 34, também se destacou com a maior média na variável MFR e Diâmetro

($P=0,033$; $P = 0,027$), diferindo-se do controle inoculado com *H. glycines*. Com relação a Produtividade, a maior média foi observada no tratamento Bt 48, mas que não se diferenciou dos demais tratamentos, exceto quando comparado ao controle inoculado com *H. glycines*, apresentando um incremento de 34,7%, equivalente a 7,6 sacas/ha (456 kg/ha).

Tabela 9. Parâmetros de desenvolvimento vegetativo da soja cv. NA 5909 RG aos 82 dias após semeadura (DAS) sob diferentes tratamentos de sementes. A soja foi cultivada em vasos em casa de vegetação e inoculada com nematoide de cisto da soja. Jaboticabal SP, safra 2021/22.

<i>Heterodera glycines</i>									
Tratamento	82 DAS						112 DAS		
	Altura (cm)		MFPA (g)	MFR (g)		Diâmetro (mm)		Produtividade sacas/ha (kg/ha)	
Controle s/ Hg	47,5	bc	35,2	13,8	ab	5,1	ab	23,5 (1410)	ab
Controle c/ Hg	51,7	abc	37,1	13,3	b	5,2	b	21,9 (1314)	b
Bt04	61,0	a	37,1	14,6	ab	5,1	ab	24,2 (1452)	ab
Bt34	57,6	a	39,5	18,1	a	5,5	a	27,6 (1656)	ab
Bt48	58,9	a	38,9	14,7	ab	5,4	ab	29,5 (1770)	a
Bt102	55,0	ab	36,5	17,4	ab	5,4	ab	25,5 (1530)	ab
Presence®	59,3	a	38,1	15,2	ab	5,3	ab	26,6 (1596)	ab
Avicta®	46,4	c	40,7	15,2	ab	5,2	ab	28,4 (1704)	ab
P valor	<0,001		0,711	0,033		0,026		0,044	
CV %	5,2		8,9	16,1		13,3		27,4	

* Dados transformados em $\text{Log}(x + 0,5)$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação. MFPA = massa fresca de partes aéreas. MFR – massa fresca de raiz.

4.2. Experimento em campo

No experimento em campo foi avaliado os efeitos dos tratamentos de sementes com *B. thuringiensis* aos 42 e 82 DAS na cultura da soja em área naturalmente infestadas com diferentes nematoides. Para o nematoide de cisto (Tabela 10), aos 42 DAS observou-se diferença estatística apenas no número de cistos viáveis, em que

as menores médias foram obtidas nos tratamentos Bt 102 e Presence[®], diferindo apenas do controle (P=0,001).

Tabela 10. População de nematoide de cisto da soja, *Heterodera glycines*, em solo e raízes de soja cv. NA 5909 RG sob diferentes tratamentos de sementes aos 42 e 82 dias após semeadura (DAS). A soja foi cultivada em área naturalmente infestada com nematoides no município de Guaíra SP, safra 2021/22.

<i>Heterodera glycines</i> aos 42 DAS										
Tratamento	10 g de raízes			100 cm ² de solo						
	Ovos	J2	Ovos + J2	Ovos	J2	Ovos + J2	Cistos viáveis		Cistos inviáveis	
Controle	27153	992	28145	17	59	76	68	a	61	
Bt04	33473	920	34394	36	54	90	45	abc	73	
Bt34	18138	569	18708	6	45	51	45	abc	66	
Bt48	28518	956	29474	19	88	107	53	abc	98	
Bt102	13460	460	13920	9	734	82	29	c	79	
Presence [®]	23706	1091	24797	14	76	90	50	bc	89	
Avicta [®]	20605	705	21310	19	54	73	53	ab	68	
P valor	0,38	0,66	0,71	0,53	0,33	0,38	0,001		0,21	
CV %	32,33	46,65	42,43	48,70	81,71	66,89	16,73		17,19	

<i>Heterodera glycines</i> aos 82 DAS											
Tratamento	10 g de raízes			100 cm ² de solo							
	Ovos	J2	Ovos + J2	Ovos	J2	Ovos + J2	Cistos viáveis		Cistos inviáveis		
Controle	24192	ab	8214	a	32406	213	363	575	184	a	58
Bt04	14688	b	3333	ab	18021	345	314	658	105	ab	71
Bt34	13817	b	8075	a	21892	198	450	648	119	ab	57
Bt48	16683	ab	6254	ab	22938	172	195	367	127	ab	129
Bt102	12604	b	2604	b	15208	395	429	824	82	b	69
Presence [®]	26192	ab	5463	ab	31654	150	425	575	123	ab	93
Avicta [®]	32739	a	3390	ab	36129	510	245	755	126	ab	67
P valor	0,010		0,022		0,18	0,80	0,82	0,79	0,09		0,13
CV %	24,1		35,0		17,5	62,1	49,1	52,2	22,1		28,3

* Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação.

Aos 82 DAS, observou-se que os tratamentos Bt 04 e, Bt 34 e Bt 102, resultaram nas menores médias de ovos de *H. glycines* nas raízes, diferindo-se do tratamento Avicta[®] (P=0,010). Para a média de J2, Bt 102 manteve-se entre os que resultam em menores médias também nas raízes, diferindo-se da testemunha (P=

0,022). Além disso, Bt 102 também resultou na menor média de cistos viáveis aos 82 DAS. Nesta variável, observou-se que o isolado reduziu em média 55,4% da população de cistos viáveis comparado a testemunha (P=0,09). Não foram detectadas diferenças entre as demais variáveis.

Ao avaliar o efeito dos tratamentos na população de nematoides de galha (Tabela 11), observou-se que, aos 42 DAS, Bt 04 apresentou a maior média de J2 nas raízes, comparado ao tratamento Avicta® (p=0,03). Também foi detectado diferença no somatório ovos + J2 nas raízes, em que o tratamento Bt 102 apresentou a menor média, comparado ao tratamento Bt 04 e Controle. Já aos 82 DAS, também foi verificado diferenças no número de J2 nas raízes, sendo o Bt 102 o que apresentou menor média, comparado ao Bt 48. No solo, Bt 48, Bt 04 e Controle, apresentaram as menores médias de ovos, diferindo-se apenas de Avicta®. Não foram detectadas diferenças nos demais variáveis nematológicas estudadas para essa espécie.

Tabela 11. População de nematoides de galha, *Meloidogyne incognita* e *Meloidogyne javanica* em solo e raízes de soja cv. NA 5909 RG sob diferentes tratamentos de sementes aos 42 e 82 dias após semeadura (DAS). A soja foi cultivada em área naturalmente infestada com nematoides no município de Guaíra SP, safra 2021/22.

<i>Meloidogyne javanica</i> e <i>M. incognita</i> os 42 DAS								
Tratamento	10 g de raízes					100 cm ³ de solo		
	Ovos	J2		Ovos + J2		J2	Ovos	Ovos + J2
Controle	41431	1959	ab	43389	a	108	6	113
Bt04	54633	2083	a	56715	a	30	20	49
Bt34	27636	828	ab	28464	ab	23	3	26
Bt48	44741	1017	ab	45757	ab	54	6	60
Bt102	20818	843	ab	21661	b	86	8	94
Presence®	34263	1904	ab	36167	ab	79	2	82
Avicta®	32316	744	b	33060	ab	115	10	124
P valor	0,23	0,03		0,034		0,22	0,70	0,138
CV %	30,26	28,04		43,5		69,33	116,56	60,23

Continuação tabela 11...

Meloidogyne javanica e M. incognita aos 82 DAS								
Tratamento	10 g de raízes			100 cm ³ de solo				
	Ovos	J2	Ovos + J2	J2	Ovos	Ovos + J2		
Controle	43651	3500	ab	47151	1088	125	b	1213
Bt04	41667	2604	ab	44271	331	105	b	436
Bt34	54433	2217	ab	56650	725	219	ab	944
Bt48	49175	4096	a	53271	619	103	b	723
Bt102	40521	1354	b	41875	1035	344	ab	1379
Presence®	42192	3650	ab	45842	863	213	ab	1075
Avicta®	45417	3834	ab	49251	485	545	a	1030
P valor	0,910	0,070		0,154	0,37	0,01		0,354
CV %	24,07	27,29		24,67	48,81	53,10		41,83

* Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação.

Tabela 12. População de nematoides das lesões radiculares, *Pratylenchus brachyurus*, em solo e raízes de soja cv. NA 5909 RG sob diferentes tratamentos de sementes aos 42 e 82 dias após semeadura (DAS). A soja foi cultivada em área naturalmente infestada com nematoides no município de Guaíra SP, safra 2021/22. Médias seguidas de letras diferentes na coluna diferem entre si (Tukey, 10%).

Pratylenchus brachyurus aos 42 DAS						
Tratamento	10 g de raízes			100 cm ³ de solo		
	Ovos	Fêmeas + juvenis	Ovos + Fêmeas + juvenis	Ovos	Fêmeas + juvenis	Ovos + Fêmeas + juvenis
Controle	42	425	467	4	4	9
Bt04	42	602	644	3	3	6
Bt34	41	249	291	10	5	15
Bt48	35	425	460	7	1	8
Bt102	25	248	273	5	1	6
Presence®	33	427	460	9	6	15
Avicta®	26	308	333	5	1	6
P valor	0,980	0,480	0,218	0,700	0,460	0,636
CV %	83,1	59,0	59,0	72,7	85,7	306,7

Continuação tabela 12...

Pratylenchus brachyurus aos 82 DAS						
Tratamento	10 g de raízes			100 cm ³ de solo		
	Ovos	Fêmeas + juvenis	Ovos + Fêmeas + juvenis	Ovos	Fêmeas + juvenis	Ovos + Fêmeas + juvenis
Controle	147	491	638	53	73	125
Bt04	210	732	941	55	93	148
Bt34	134	548	682	62	54	116
Bt48	203	724	927	30	57	88
Bt102	250	184	434	41	97	138
Presence[®]	178	512	690	68	90	158
Avicta[®]	128	449	578	50	60	109
P valor	0,840	0,830	0,932	0,770	0,890	0,634
CV %	64,6	97,6	56,6	1,0	54,8	49,4

* Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação.

Os parâmetros de desenvolvimento da soja foram avaliados nas mesmas épocas das avaliações nematológicas, exceto para a emergência das plantas, que foi avaliado aos 15 DAS (Tabela 14). Todos os tratamentos tiveram efeito positivo para a emergência das plântulas de soja, com destaque para o tratamento Bt 04 que diferiu da testemunha, com 13,7% a mais de plantas emergidas (P=0,029).

Para o desenvolvimento das plantas aos 42 DAS (Tabela 14), observou-se que os tratamentos, Bt 04, Bt 48, Bt 102 e Presence[®], apresentaram as maiores médias de MFPA e MFR, diferindo-se do Controle e Avicta[®], com as menores médias (P<0,001; P<0,001). Os tratamentos Bt 48 e Bt 102, apresentaram as maiores médias de Altura, diferindo dos tratamentos Avicta[®] e Bt 34 (P<0,001). Para Diâmetro, observou-se maior média nos tratamentos, Bt 34 e Bt 48, que diferiram dos tratamentos Bt 102, seguido de Presence[®] e Avicta[®] com as menores médias (P<0,001).

Tabela 13. População total de nematoides em solo e raízes de soja cv. NA 5909 RG sob diferentes tratamentos de sementes aos 42 e 82 dias após semeadura (DAS). A soja foi cultivada em área naturalmente infestada com nematoides no município de Guaíra SP, safra 2021/22.

Tratamento	Total de nematoides* aos 42 DAS		Total de nematoides* aos 82 DAS	
	10 g de raízes	100cm ³ de solo	10 g de raízes	100cm ³ de solo
Controle	94421	a	184	
Bt04	112696	a	118	
Bt34	58330	ab	85	
Bt48	100158	a	186	
Bt102	44979	b	217	
Presence [®]	76047	ab	188	
Avicta [®]	70215	ab	197	
P valor	0,021		0,430	
CV %	20,9		43,0	
			0,670	0,440
			21,0	27,1

*Média do total de ovos e J2 de *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne javanica*, *M. incognita* e *Heterodera glycines*. Dados transformados em $\sqrt{(x + 0,5)}$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação.

Tabela 14. Parâmetros de emergência de plântulas aos 15 dias após semeadura (DAS) e de desenvolvimento vegetativo da soja cv. NA 5909 RG aos 42 dias após semeadura (DAS) sob diferentes tratamentos de sementes. A soja foi cultivada em área naturalmente infestada com nematoides no município de Guaíra SP, safra 2021/22.

Tratamento	15 DAS		42 DAS							
	Emergência (%)		MFPA (g)		MFR (g)		Altura (cm)		Diâmetro (mm)	
Controle	75,6	b	22,8	c	3,3	c	26,1	abc	4,8	bcd
Bt04	89,3	a	25,3	abc	4,0	ab	26,3	ab	5,1	abc
Bt34	81,4	ab	24,3	bc	3,5	bc	25,7	bc	5,1	a
Bt48	80,0	ab	27,1	ab	4,0	a	26,6	a	5,3	ab
Bt102	80,2	ab	27,5	a	4,1	a	26,5	a	4,7	cd
Presence [®]	81,7	ab	26,2	ab	3,7	abc	26,3	ab	4,5	d
Avicta [®]	80,7	ab	22,3	c	3,3	c	25,4	c	4,4	d
P valor	0,029		<0,001		<0,001		<0,001		<0,001	
CV %	12,25		25,34		18,2		10,55		21,08	

*Dados transformados em $\text{Log}(x + 0,5)$. As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação. MFPA = massa fresca de partes aéreas. MFR – massa fresca de raiz.

Ao verificar o efeito dos tratamentos no desenvolvimento da soja aos 82 DAS, observou-se que os tratamentos Bt 04, Bt 34 e Bt 102 apresentaram as maiores médias para MFPA, diferindo-se do controle (P=0,008). Não foi verificada diferença entre os tratamentos para as médias de MFR. O tratamento Bt 34 resultou na maior média para Altura diferindo-se dos demais tratamentos, exceto quando comparado ao Bt 102, que também se diferenciou do tratamento Avicta® de Bt 04 (P<0,001). Com relação ao Diâmetro, observou-se que os tratamentos Bt 34, Bt 48, Bt 102 e Avicta®, apresentaram as maiores médias, diferindo-se dos tratamentos Controle e Presence® (P<0,001).

Para o efeito dos tratamentos na produtividade da soja/ha (Figura 1), observou-se que todos os tratamentos resultaram no incremento da produtividade em relação a testemunha. Ainda, houve destaque para os tratamentos Bt 102, Bt 34, Bt 48, que apresentaram as maiores médias, com até 11,2 saca/ha (696 kg/ha) a mais que o controle, um aumento equivalente a 28,3% de produtividade.

Tabela 15. Parâmetros de desenvolvimento vegetativo da soja cv. NA 5909 RG sob diferentes tratamentos de sementes aos 82 dias após semeadura (DAS). A soja foi cultivada em área naturalmente infestada com nematoides no município de Guaira SP, safra 2021/22.

Tratamento	82 DAS							
	MFPA (g)		MFR (g)		Altura (cm)		Diâmetro (mm)	
Controle	9,9	b	11,4	69,8	bc	8,0	b	
Bt04	10,5	ab	11,3	67,0	c	8,5	ab	
Bt34	11,4	a	11,1	74,8	a	9,0	a	
Bt48	11,6	a	11,4	69,7	bc	9,0	a	
Bt102	11,5	a	10,4	71,3	ab	9,1	a	
Presence®	10,0	ab	10,4	69,1	bc	8,0	b	
Avicta®	11,2	ab	10,9	66,8	c	9,0	a	
P valor	0,008		0,64		<0,001		<0,001	
CV %	7,3		38,08		19,94		18,7	

*Dados transformados em Log(x + 0,5). As médias apresentadas correspondem aos valores originais, sem transformação. Letras diferentes na coluna indicam diferença entre os tratamentos de acordo com Tukey (0,1). CV% = Coeficiente de variação. MFPA = massa fresca de partes aéreas. MFR = massa fresca de raiz.

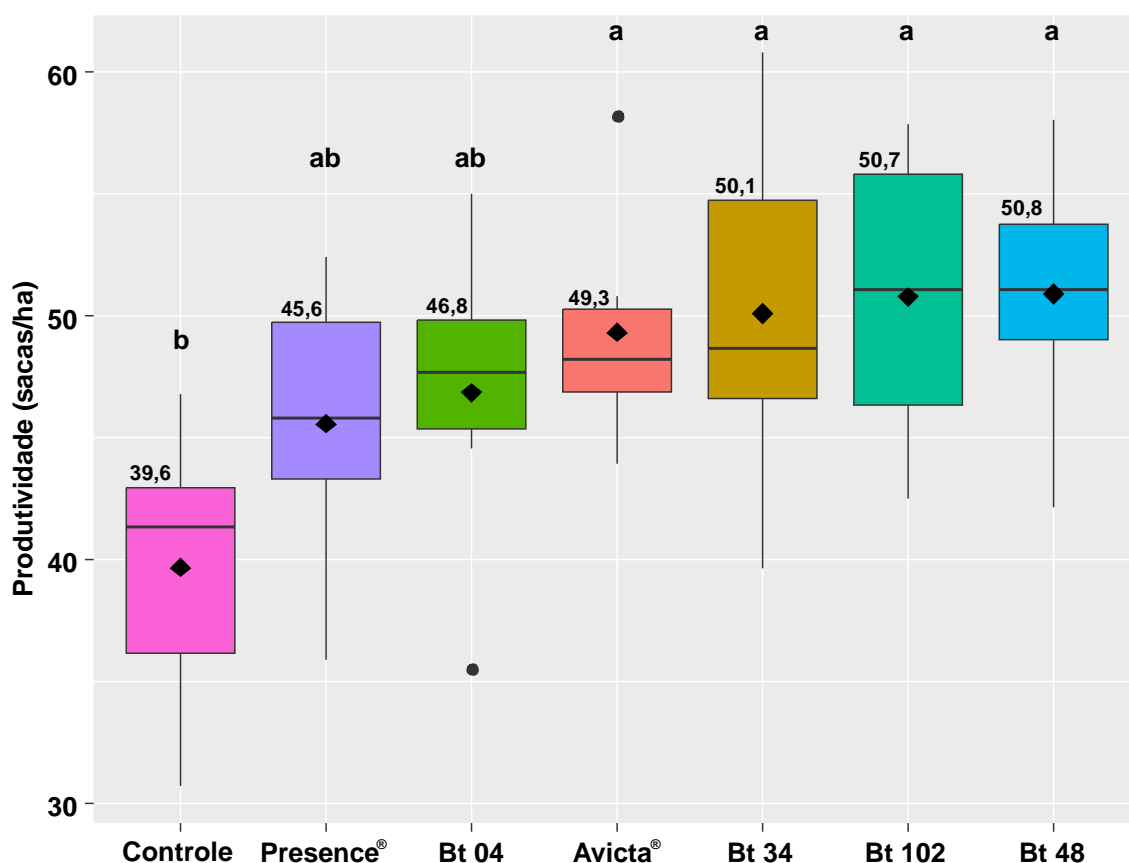


Figura 1. Efeito dos tratamentos realizados via tratamento de sementes na produtividade de soja cv. NA 5909 RG em sacas/ha (1 saca = 60kg) em área naturalmente infestada com nematoides. Guaíra SP, safra 2021/22. Médias seguidas de letras diferentes na barra diferem entre si (Tukey, 0,1). CV% = 12,12%; P valor = 0,022.

5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos nesse trabalho, de modo geral, mostraram que isolados de *B. thuringiensis* podem suprimir a população de nematoides e, ainda, incrementar a produtividade da soja. O que torna esses organismos excelentes candidatos a princípios ativos de novos bio defensivos visando o manejo de nematoides. *Bacillus thuringiensis* são conhecidos por sua multifuncionalidade, são bactérias amplamente utilizadas no controle de insetos, principalmente para o controle de lepidópteros (Monnerat et al., 2007). No entanto, diversos trabalhos têm apontado sua eficiência no controle de outros grupos de artrópodes como dípteros (Zubairu et al., 2022),

coleópteros (Li et al., 2021), hemípteros e ácaros (Cuatlayotl-Cottier et al., 2022). Há também estudos que associam a utilização de *B. thuringiensis* e seus subprodutos, no controle de fungos (Shrestha et al., 2015), bactérias (Park et al., 2008) e nematoides (Kahn et al., 2021; Ravari e Moghaddam, 2015).

De acordo com os dados apresentados também foi possível observar que, dentre os isolados avaliados, não houve um único que se destacasse em todas as características e condições avaliadas. Condições ambientais, interação com a planta, pH do solo, comunidade de microrganismos e disponibilidade nutricional (Bastías et al., 2023; Compant et al., 2010), são alguns dos fatores que podem interferir na expressão genética de cada isolado, afetando sua estabilidade de ação. Ou seja, a variação dos resultados obtidos nesse trabalho pode ser devido a interação entre os fatores bióticos e abióticos de cada situação com o isolado testado. Portanto, estudos avaliando os mesmos isolados contra essas e outras espécies de nematoides e sob condições ambientais distintas são incentivados para confirmar a eficiência e estabilidade dos resultados.

Os resultados em campo demonstraram que os isolados de Bt não foram eficientes na supressão de *P. brachyurus*. Esse efeito pode estar relacionado a elevada população das espécies de *Meloidogyne* e *Heterodera*. Em caso de populações mistas, a espécie mais adaptada tende a sobressair naquele habitat, dificultando o estabelecimento de outras espécies, como já observado para *P. brachyurus* e *M. javanica* em soja (Ferraz, 1995). Esse efeito pode ter influenciado o crescimento populacional natural de *P. brachyurus*, dificultando que os efeitos dos tratamentos fossem detectados. A baixa eficiência dos isolados para essa espécie também pode estar relacionada ao hábito migrador da espécie, embora não haja na literatura estudos que sustentem essa hipótese.

Ao avaliar a eficiência dos isolados no controle de *M. javanica*, tanto em casa de vegetação quanto em campo, observou-se que os tratamentos apresentaram efeito menos evidente tal como foi para *Heterodera*, apenas com alguns resultados para a redução de ovos e J2 em Bt 102 e Bt 34. Testes com a linhagem *B. thuringiensis dendrolimus* T04 A001 demonstraram a capacidade de produção de inclusões paraesporais bipiramidais, com a produção de protoxinas de peso molecular de

aproximadamente 130kDa e polipeptídios tóxicos ou delta-endotoxina de 70kDa (Pinto e Fiuza, 1998). Além disso, isolados de *B. thuringiensis* produtores da toxina Cry14 já foram reportados como capazes de reduzir em até 51% o número de galhas de *M. javanica* em tomate cultivado em casa de vegetação (Ravari e Moghaddam, 2015).

O isolado Bt 102 (Br 52 – solo) também se destacou no controle populacional de *M. javanica*, *M. incognita* e *H. glycines*, no entanto, não foram encontradas informações a respeito das propriedades desse isolado. Os isolados Bt 04 (*B. thuringiensis indiana*) e Bt 48 (*B. thuringiensis monterrey*) também apresentaram algum efeito na supressão de ovos de *H. glycines*. *Bacillus thuringiensis indiana* já foi reportado como produtor de Cry1Ab (Abdel-Razek et al., 2002), proteína conhecida por suas propriedades tóxicas à larvas de lepidópteros (Van Den Berg et al., 2013). Trabalhos demonstraram que o nematoide de vida livre, *C. elegans*, exposto a diferentes concentrações de Cry1Ab teve redução significativa de crescimento e reprodução à medida que houve aumento da concentração da proteína (Höss et al., 2008). Entretanto, é importante ressaltar que, apesar de *C. elegans* ser um organismo modelo para esse tipo de estudo, os efeitos podem não se refletir em determinadas espécies de nematoides parasitos de plantas, devido a presença do estilete, órgão que pode funcionar com um filtro seletor na hora da ingestão do alimento (Zhang et al., 2012).

Os dados obtidos nesse trabalho, evidenciaram que Bt 34 apresentou eficiência ainda maior na supressão de *H. glycines*, comparado ao *M. javanica*. As toxinas produzidas por *B. thuringiensis*, após ingeridas, podem resultar em danos em seu sistema digestivo, diminuição da fertilidade e morte (Marroquin et al., 2000). Toxinas Cry de até 140 kDa foram capazes de ser ingeridas por J2 de segundo estágio de *M. hapla*, entretanto, os autores também notaram que a capacidade de captação das proteínas é reduzida com o aumento da massa molecular das proteínas (Zhang et al., 2012). O estilete do J2 de *M. javanica* pode ter entre 14 e 18 µm, enquanto o de *H. glycines* em torno de 21 a 25 µm (Eisenback e Triantaphyllou, 1991; Handoo e Subbotin, 2018). Desta forma, é possível dizer que a maior eficiência de supressão de *H. glycines* pode estar relacionada ao estilete maior, sendo mais suscetíveis a ingestão de toxinas de maior massa. Assim como, o estilete menor de *M. javanica* pode ter limitado a eficiência de certos isolados devido ao tamanho de suas toxinas.

Além das toxinas, *B. thuringiensis* também podem atuar por outras vias de forma a auxiliar na supressão da população de nematoides. Espécies de *Bacillus* são comumente conhecidas por sua eficiência na supressão de nematoides pela capacidade de colonização do sistema radicular das plantas, além da competição por nutrientes, indução de resistência, produção de enzimas líticas, formação de biofilmes e redução da atratividade dos nematoides (Ghahremani et al., 2020; LI et al., 2019; Nascimento et al., 2022; Moghaddam et al., 2014). Algumas dessas características, também já foram verificadas em cepas de *B. thuringiensis* (Gomaa, 2012; Takahashi et al., 2014; Vidal-Quist et al., 2013), embora ainda não tenham sido associadas diretamente ao controle de nematoides.

Os isolados de *B. thuringiensis* avaliados também se mostraram promissores quanto a capacidade de promover o desenvolvimento das plantas e aumentar o rendimento da soja. Espécies de *Bacillus* são reconhecidas como importantes rizobactérias promotoras de crescimento vegetal (Nascimento et al., 2022; Xiang et al., 2018). Dentre os mecanismos de promoção de crescimento de plantas conhecidos para *B. thuringiensis*, tem-se: produção de sideróforos, moléculas quelantes de ferro tornando-o mais disponível; produção de ácido indolacético (AIA), hormônio promotor de crescimento de raízes; produção de ACC deaminase, enzima que reduz os níveis de etileno; solubilização de fósforo, tornando-o mais disponível, dentre outros mecanismos (Azizoglu, 2019; Raddadi et al., 2008).

Não foram encontrados estudos que relacionam as linhagens Bt 34 (*B. thuringiensis dendrolimus* T04 A001), Bt 04 (*B. thuringiensis indiana*), Bt 48 (*B. thuringiensis monterrey*) e Bt 102 (Br 52 – solo) a qualquer fator relacionado a promoção de crescimento vegetal. No entanto, os dados desse trabalho suportam que esses isolados podem promover o crescimento vegetal resultando em aumento direto na produtividade, embora os mecanismos de promoção de crescimento ainda precisam ser esclarecidos.

Com base nas informações apresentadas nesse trabalho, foi possível observar que os quatro isolados avaliados (Bt 04, Bt 34, Bt 48 e Bt 102), apresentaram características promissoras quanto à supressão de nematoides. No entanto, os efeitos de Bt 34 e Bt 102 se mostraram mais estáveis aos longos dos experimentos com

relação à supressão das espécies de *Meloidogyne* e *Heterodera*. Quanto a produtividade, além de Bt 34 e Bt 102, o isolado Bt 48 também apresentou bons resultados no incremento de rendimento da soja.

No Brasil, a grande maioria dos bionematicidas são compostos por diferentes espécies de *Bacillus*, no entanto *B. thuringiensis* ainda é subutilizado frente ao seu potencial, visto que possui propriedades tóxicas a nematoides somado à capacidade de promoção de crescimento vegetal. Os resultados desse trabalho demonstram o potencial de cepas de *B. thuringiensis* como base para a formulação de bioprodutos visando o manejo e incremento da produtividade da cultura da soja. Entretanto, pesquisas voltadas para a caracterização dos isolados quanto aos mecanismos de promoção de crescimento, bem como, o modo de ação em nematoides, são necessárias para compreender as suas características e assim, posicioná-las de forma mais adequada.

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos nos experimentos em casa de vegetação é possível concluir que Bt 34 (*B. thuringiensis dendrolimus* T04 A001) reduz o número de ovos de *M. javanica*, enquanto Bt 102 (Br 52 – solo) e Bt 34 reduzem ovos de *H. glycines*.

Em campo, é possível concluir que os isolados Bt 34 e Bt 102 podem suprimir a população de *Heterodera glycines*, *Meloidogyne javanica* e *Meloidogyne incognita*, sendo os efeitos de supressão maiores em *H. glycines*. Nenhum isolado apresenta eficiência na redução de *Pratylenchus brachyurus* em campo. Os isolados Bt 34, Bt 102 e Bt 48 (*B. thuringiensis monterrey*) propiciam aumento no desenvolvimento das plantas e maior produtividade da soja.

7. REFERÊNCIAS

Abd-Elgawad MMM, Askary TH (2015) Impact of Phytonematodes on Agricultural Economy. In: Askary TH, Martinelli PRP (org.). **Biocontrol Agents of Phytonematodes**. Boston, MA: CABI, p. 3–49.

Abdel-Razek AS, Morris ON, White NDG, Salama HS, El-Moursy A, Aboul-Ela R (2002) Comparative histopathology of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) As affected by *Bacillus Thuringiensis* varieties indiana or morrisoni. **Archives of phytopathology and plant protection** 35(4):307–320. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/03235400216132>

AGROFIT (2023) **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Disponível em: https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 26 set. 2023.

Azizoglu U (2019) *Bacillus thuringiensis* as a biofertilizer and biostimulator: a Mini-review of the little-known plant growth-promoting properties of Bt. **Current Microbiology** 76(11):1379–1385. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00284-019-01705-9>

Ravari SB, Moghaddam EM (2015) Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Cry14 toxin against root knot nematode, *Meloidogyne javanica*. **Plant Protection Science** 51(1):46–51. Disponível em: <https://doi.org/10.17221/93/2013-PPS>

Bastías DA, Ueno AC, Gundel PE (2023) Global Change Factors Influence Plant-Epichloë Associations. **Journal of Fungi** 9(4):446. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/jof9040446>

Boneti JIS, Ferraz S (1981) Modifications of the Hussey and Barker method for extracting eggs from *Meloidogyne exigua* in coffee roots. **Fitopatologia Brasileira** 6:553.

Borsari ACP, Vieira LC (2022) Mercado e perspectivas dos bioinsumos no Brasil. In: Meyer MC, Bueno A de F, Mazaro SM, Silva JC da (org.). **Bioinsumos na cultura da soja**. Embrapa Soja ed. Brasília DF: Embrapa, v. 1, p. 39–52.

Castillo P, Vovlas N (2007) *Pratylenchus* (Nematoda: Pratylenchidae): Diagnosis, Biology, Pathogenicity and Management. **Nematology Monographs and Perspectives** 6:1–543. Disponível em: <https://doi.org/10.1163/EJ.9789004155640.I-523>

Compant S, Van Der Heijden MGA, Sessitsch A (2010) Climate change effects on beneficial plant-microorganism interactions. **FEMS Microbiology Ecology**. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.2010.00900.x>

Coolen WA, D'Herde CJ (1972) A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. **Agricultural Research Administration**, p. 77.

Cuatlayotl-Cottier R, Huerta-De La Peña A, Peña-Chora G, Salazar-Magallón JA (2022) Insecticidal activity of industrial by-products fermented by *Bacillus thuringiensis* strain GP139 against Mites (Prostigmata: Tetranychidae) and Aphids (Hemiptera: Aphidoidea). **Biocontrol Science and Technology** 32(1):103–109. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09583157.2021.1961686>

Decraemer W, Hunt DJ (2006) Structure and classification. In: **Plant nematology**. Wallingford: CABI, p. 3–32. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/9781845930561.0003>

Dias WP, Garcia A, Silva JFV, Carneiro GES (2010) **Nematóides em Soja: Identificação e Controle**. Circular Técnica, Londrina, v. 76, p. 8.

Dias-Arieira CR, Santana-Gomes SM de M, Miamoto A, Machado ACZ (2022) Manejo biológico de nematoides. In: Meyer MC, De Freitas Bueno A, Mazaro SM, Da Silva JC (org.). **Bioinsumos na cultura da soja**. Embrapa Soja ed. Embrapa, v. 1, p. 345–358.

Eisenback JD, Hirschmann H (1981) Identification of *Meloidogyne* species on the basis of head shape and, stylet morphology of the male. **Journal of nematology** 13(4):513–21.

Eisenback JD, Triantaphyllou HH (1991) Root-Knot Nematodes: *Meloidogyne* Species and Races. In: Nickle WR (org.). **Manual of Agricultural Nematology**. 1. ed. New York: CRC Press, p. 191–274.

Esbenshade PR, Triantaphyllou AC (1985) Use of Enzyme Phenotypes for Identification of *Meloidogyne* Species. **Journal of Nematology** 17(1):6–20. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19294051/>.

Ferraz LCCB (1995) Interações entre *Pratylenchus brachyurus* e *Meloidogyne javanica* em soja. **Scientia Agricola** 52(2):305–309. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-90161995000200017>

Ferraz LCCB, Brown DJF (2016) **Nematologia de plantas: fundamentos e importância**. Manaus: Norma Edit.

Garsin DA, Sifri CD, Mylonakis E, Qin X, Singh KV, Murray BE, Calderwood SB, Ausubel FM (2001) A simple model host for identifying gram-positive virulence factors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 98(19):10892–7. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.191378698>.

Ghahremani Z, Escudero N, Beltrán-Anadón D, Saus E, Cunqueiro M, Andilla J, Loza-Alvarez P, Gabaldón T, Sorribas FJ (2020) *Bacillus firmus* Strain I-1582, a nematode antagonist by itself and through the plant. **Frontiers in plant Science** 11. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00796>

Gomaa EZ (2012) Chitinase production by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus licheniformis*: Their potential in antifungal biocontrol. **The Journal of Microbiology** 50(1):103–111. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12275-012-1343-y>

Handoo ZA, Subbotin SA (2018) Taxonomy, identification and principal species. In: Perry RN, Moens M, Jones JT (org.). **Cyst nematodes**. UK: CAB International, p. 365–398. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/9781786390837.0365>

Höss S, Arndt M, Baumgarte S, Tebbe CC, Nguyen HT, Jehle JA (2008) Effects of transgenic corn and Cry1Ab protein on the nematode, *Caenorhabditis elegans*. **Ecotoxicology and Environmental Safety** 70(2):334–340. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.10.017>

Iatsenko I, Boichenko I, Sommer RJ (2014) *Bacillus thuringiensis* DB27 produces two novel protoxins, Cry21Fa1 and Cry21Ha1, which act synergistically against nematodes. **Applied and environmental microbiology** 80(10):3266–75. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/AEM.00464-14>.

Kahn TW, Duck NB, McCarville MT, Schouten LC, Schweri K, Zaitseva J, Daum J (2021) A *Bacillus thuringiensis* Cry protein controls soybean cyst nematode in transgenic soybean plants. **Nature Communications** 2021 12:1, 12(1):1–12. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23743-3>.

Li E-T, Zhang S, Li K-B, Nyamwasaa I, Li J-Q, Li X-F, Qin J-H, Yin J (2021) Efficacy of entomopathogenic nematode and *Bacillus thuringiensis* combinations against

Holotrichia parallela (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae. **Biological Control** 152:104469. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104469>

Li X, Hu H-J, Li J-Y, Wang C, Chen S-L, Yan S-Z (2019) Effects of the endophytic bacteria *Bacillus cereus* BCM2 on tomato root exudates and *Meloidogyne incognita* Infection. **Plant Disease** 103(7):1551–1558. Disponível em: <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-2016-RE>

Marroquin LD, Elyassnia D, Griffiths JS, Feitelson JS, Aroian RV (2000) *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin susceptibility and isolation of resistance mutants in the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Genetics** 155(4):1693–1699. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/genetics/155.4.1693>

Meyer MC, Favoreto L, Klepker D, Marcelino-Guimarães FC (2017) Soybean green stem and foliar retention syndrome caused by *Aphelenchoides besseyi*. **Tropical Plant Pathology** 42(5):403–409. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0167-z>

Monnerat RG et al. (2007) Screening of Brazilian *Bacillus thuringiensis* isolates active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatalis*. **Biological Control** 41(3):291–295. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2006.11.008>

Nascimento DD, Rodrigues M, Ferreira RJ, Marchioro V, Silva EM da, Silva Junior CA, Kupper KC, Polanczyk RA, Soares PLM (2022) Soybean growth-promotion and *Heterodera glycines* suppression in two application methods of *Bacillus* strains. **Biological Control** 175:105039. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105039>

Park SJ, Park SY, Ryu CM, Park SH, Lee JK (2008) The role of AiiA, a quorum-quenching enzyme from *Bacillus thuringiensis*, on the rhizosphere competence. **Journal of microbiology and biotechnology** 18(9):1518–1521. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18852506/>

Pinto LMN, Fiuza LM (1998) Produção e purificação de endotoxinas de *Bacillus thuringiensis* supesp. *dendrolimus*. Porto Alegre, RS.

Polanczyk RA, Nascimento J do, Freitas MM, Nascimento DD (2022) Manejo de Pragas com Bactérias Entomopatogênicas. In: Meyer MC, Bueno A de F, Mazaro SM, Silva JC (org.). **Bioinsumos na Cultura da Soja**. Brasília, DF: Embrapa, v. 1, p. 361–376. E-book. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/360814291_Manejo_de_pragas_com_bacterias_entomopatogenicas

R Core Team (2020) **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria.

Raddadi N, Cherif A, Boudabous A, Daffonchio D (2008) Screening of plant growth promoting traits of *Bacillus thuringiensis*. **Annals of Microbiology** 58(1):47–52. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF03179444>

Moghaddam MR, Moghaddam EM, Ravari SB, Rouhani H (2014) The nematicidal potential of local *Bacillus* species against the root-knot nematode infecting greenhouse tomatoes. **Biocontrol Science and Technology** 24(3):279–290. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/09583157.2013.858100>

Ravari SB, Moghaddam EM (2015) Efficacy of *Bacillus thuringiensis* Cry14 toxin against root knot nematode, *Meloidogyne javanica*. **Plant Protection Science** 51(1):46–51. Disponível em: <https://doi.org/10.17221/93/2013-pps>.

Salehi Jouzani G, Seifinejad A, Saeedizadeh A, Nazarian A, Yousefloo M, Soheilvand S, Mousivand M, Jahangiri R, Yazdani M, Amiri RM, Akbari S (2008) Molecular detection of nematicidal crystalliferous *Bacillus thuringiensis* strains of Iran and evaluation of their toxicity on free-living and plant-parasitic nematodes. **Canadian journal of microbiology** 54(10):812–22. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/w08-074>

Shepherd AM (1986) Extraction and estimation of cyst nematodes. In: Southey JF (org.). **Laboratory methods for work with plant and soil nematodes**. MAFF Refered. London: HMSO, p. 31–49.

Shrestha A, Sultana R, Chae J-C, Kim K, Lee K-J (2015) *Bacillus thuringiensis* C25 which is rich in cell wall degrading enzymes efficiently controls lettuce drop caused by

Sclerotinia minor. **European Journal of Plant Pathology** 142(3):577–589. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0636-5>

Sikora RA, Desaeger J, Molendijk L (2021) **Integrated nematode management: state-of-the-art and visions for the future**. Wallingford: CABI. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/9781789247541.0000>

Soares PLM, Nascimento DD (2021) Integrated nematode management of root lesion and root-knot nematodes in soybean in Brazil. In: **Integrated nematode management: state-of-the-art and visions for the future**. Wallingford: CABI, p. 103–110. E-book. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/9781789247541.0015>

Soares PLM, Nascimento DD, Vidal RL, Vizontini LR (2017) Controle Biológico de Nematoides. In: Baldin EL, Kronka AZ, Silva IF da (org.). **Inovações em manejo fitossanitário**. 1. ed. Botucatu: FEPAF, p. 167–189.

Takahashi H, Nakaho K, Ishihara T, Ando S, Wada T, Kanayama Y, Asano S, Yoshida S, Tsushima S, Hyakumachi M (2014) Transcriptional profile of tomato roots exhibiting *Bacillus thuringiensis*-induced resistance to *Ralstonia solanacearum*. **Plant Cell Reports** 33:99–110. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00299-013-1515-1>

Taylor DP, Netscher C (1974) An improved technique for preparing perineal patterns of *Meloidogyne* spp. **Nematologica** 20(2):268–269. Disponível em: <https://doi.org/10.1163/187529274X00285>

United Nations (2023) **Transforming our world: the 2030 agenda for sustainable Development**.

Van den Berg J, Hilbeck A, Bøhn T (2013) Pest resistance to Cry1Ab Bt maize: Field resistance, contributing factors and lessons from South Africa. **Crop Protection** 54:154–160. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2013.08.010>

Vidal-Quist JC, Rogers HJ, Mahenthiralingam E, Berry C (2013) *Bacillus thuringiensis* colonises plant roots in a phylogeny-dependent manner. **FEMS Microbiology Ecology** 86(3):474–489. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/1574-6941.12175>

Wei JZ, Hale K, Carta L, Platzer E, Wong C, Fang SC, Aroian RV (2003) *Bacillus thuringiensis* crystal proteins that target nematodes. **Proc. Natl Acad. Sci. USA** 100(5):2760–2765. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.0538072100>

- Xiang N, Lawrence KS, Donald PA (2018) Biological control potential of plant growth-promoting rhizobacteria suppression of *Meloidogyne incognita* on cotton and *Heterodera glycines* on soybean: A review. **Journal of Phytopathology** 166(7–8):449–458. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jph.12712>
- Yang J, Liang L, Li J, Zhang K-Q (2013) Nematicidal enzymes from microorganisms and their applications. **Applied microbiology and biotechnology** 97(16):7081–95. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5045-0>.
- Zhang F, Peng D, Ye X, Yu Z, Hu Z, Ruan L, Sun M (2012) In Vitro Uptake of 140 kDa *Bacillus thuringiensis* Nematicidal Crystal Proteins by the Second Stage Juvenile of *Meloidogyne hapla*. **PLoS ONE** 7(6):e38534. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038534>
- Zhou M, Yu H, Yin X, Sabour PM, Chen W, Gong J (2014) *Lactobacillus zeae* protects *Caenorhabditis elegans* from enterotoxigenic *Escherichia coli*-caused death by inhibiting enterotoxin gene expression of the pathogen. **PloS one** 9(2):e89004. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089004>
- Zubairu M, Zubairu A, Rabiou KM, Abdu F, Uthman HA (2022) Evaluation of *Bacillus thuringiensis* from different habitats for lethality against larvae of some species of mosquito. **Fudma Journal of Sciences** 5(4):76–80. Disponível em: <https://doi.org/10.33003/fjs-2021-0504-783>