



PÂMELLA DE SÁ CAETANO

***Bacillus amyloliquefaciens* CN 307 E SUA FORMULAÇÃO
COMERCIAL NA QUIMIOTAXIA DE *Meloidogyne incognita***

**LAVRAS – MG
2026**

PÂMELLA DE SÁ CAETANO

***Bacillus amyloliquefaciens* CN 307 E SUA FORMULAÇÃO COMERCIAL NA
QUIMIOTAXIA DE *Meloidogyne incognita***

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Lavras, como parte das exigências
do Programa de Pós Graduação em
Agronomia/Fitopatologia, para a obtenção do
título de Mestre.

Prof. Dr. Willian César Terra

Orientador

Dra. Vytória Piscitelli Cavalcanti

Coorientadora

**LAVRAS – MG
2026**

**Ficha Catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração
de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com
dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Caetano, Pâmella de Sá.

Bacillus amyloliquefaciens CN 307 e sua formulação comercial na quimiotaxia de
Meloidogyne incognita / Pâmella de Sá Caetano. - 2026.

46 p. : il.

Orientador: Willian Cesar Terra

Coorientadora: Vytória Piscitelli Cavalcanti

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2026.

Bibliografia.

1. Fitonematoides. 2. Quimiotaxia. 3. Bacillus amyloliquefaciens. I. Terra,
Willian Cesar . II. Piscitelli Cavalcanti, Vytória. III. Universidade Federal de Lavras.
IV. Título.


PÂMELLA DE SÁ CAETANO

***Bacillus amyloliquefaciens* CN 307 E SUA FORMULAÇÃO COMERCIAL NA
QUIMIOTAXIA DE *Meloidogyne incognita***

***Bacillus amyloliquefaciens* CN 307 AND ITS COMMERCIAL FORMULATION IN
THE CHEMOTAXIS OF *Meloidogyne incognita***

Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Lavras, como parte das exigências
do Programa de Pós Graduação em
Agronomia/Fitopatologia, para a obtenção do
título de Mestre.

APROVADA em 12 de dezembro de 2025
Prof. Dr. Willian César Terra – UFLA/DFP
Prof. Dr. Eduardo Alves – UFLA/DFP
Prof. Dra. Carolina da Silva Siqueira – UFLA/DFP
Dra. Livia Pimenta Teixeira - EPAMIG

Documento assinado digitalmente
 WILLIAN CESAR TERRA
Data: 12/01/2026 10:46:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Willian César Terra
Orientador
Dra. Vytória Piscitelli Cavalcanti
Coorientadora

**LAVRAS – MG
2026**

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Fitopatologia, pela oportunidade concedida para a realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de estudos durante o mestrado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Willian Terra, pela orientação, dedicação e valiosos ensinamentos ao longo desses anos.

À minha coorientadora Dra. Vytória Piscitelli Cavalcanti, por toda contribuição e ensinamentos.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, pelo apoio e orientação para a realização deste trabalho.

Aos Laboratórios de Microscopia Eletrônica e Patologia de Sementes, pela parceria durante a realização dos experimentos.

A todos do Laboratório de Nematologia, pelo auxílio e parceria.

RESUMO

O nematoide das galhas, *Meloidogyne incognita*, causa expressivos prejuízos à agricultura mundial. Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação e no Laboratório de Nematologia da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil. Os tratamentos consistiram na aplicação do produto comercial Auba[®] ou do isolado *B. amyloliquefaciens* CN 307 em sementes de soja (*Glycine max* L.), cv. M 6410 IPRO, feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), cv. 2051, e milho (*Zea mays* L.), híbrido P 3707VYH C1. Ensaios de quimiotaxia mostraram que exsudatos radiculares e raízes tratadas apresentaram efeito repelente sobre os J2, resultado também observado quando apenas o produto ou o isolado foram testados. A formação de biofilme ocorreu apenas em raízes de feijão tratadas com o produto. Em feijão, o produto comercial e o isolado reduziram o número de galhas por grama de raiz em 31,24% e 42,96%, respectivamente, e o número de ovos por grama de raiz em 55,32% e 40%. No segundo experimento, não houve redução significativa no número de galhas, porém ocorreram reduções no número de ovos por grama de raiz de 59,78% com o produto e 32,14% com o isolado. Em soja, no primeiro experimento, não houve redução significativa no número de galhas por grama de raiz, entretanto o número de ovos foi reduzido em 64,18% com o produto e 38,31% com o isolado. No segundo experimento, as reduções no número de galhas por grama de raiz foram de 38,33% com o produto e 27,80% com o isolado, sem efeito significativo sobre o número de ovos. Análises por microscopia com espectroscopia Raman indicaram, nas raízes tratadas, picos associados a celulose, xilana e lignina, com predominância de celulose em feijão e lignina em soja. Os resultados indicam que o produto e o isolado apresentam potencial para o manejo biológico de *M. incognita*, atuando por efeitos diretos e por alterações bioquímicas nos tecidos radiculares.

Palavras-chave: *Meloidogyne incognita*; Quimiotaxia; *Bacillus amyloliquefaciens*.

ABSTRACT

The root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*, causes significant damage to agriculture worldwide. Experiments were conducted in a greenhouse and at the Nematology Laboratory of the Federal University of Lavras, Minas Gerais, Brazil. Treatments consisted of applying the commercial product Auba® or the isolate *B. amyloliquefaciens* CN 307 to seeds of soybean (*Glycine max* L.), cv. M 6410 IPRO, common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), cv. 2051, and corn (*Zea mays* L.), hybrid P 3707VYH C1. Chemotaxis assays showed that treated root exudates and roots exhibited a repellent effect on J2 nematodes, a result also observed when only the product or the isolate was tested. Biofilm formation occurred only in bean roots treated with the product. In beans, the commercial product and the isolate reduced the number of galls per gram of root by 31.24% and 42.96%, respectively, and the number of eggs per gram of root by 55.32% and 40%. In the second experiment, there was no significant reduction in the number of galls, but there were reductions in the number of eggs per gram of root of 59.78% with the product and 32.14% with the isolate. In soybeans, in the first experiment, there was no significant reduction in the number of galls per gram of root; however, the number of eggs was reduced by 64.18% with the product and 38.31% with the isolate. In the second experiment, the reductions in the number of galls per gram of root were 38.33% with the product and 27.80% with the isolate, with no significant effect on the number of eggs. Microscopic analysis with Raman spectroscopy indicated, in the treated roots, peaks associated with cellulose, xylan, and lignin, with a predominance of cellulose in beans and lignin in soybeans. The results indicate that the product and the isolate have potential for the biological management of *M. incognita*, acting through direct effects and biochemical alterations in root tissues.

Keywords: *Meloidogyne incognita*; Chemotaxis; *Bacillus amyloliquefaciens*.

INDICADORES DE IMPACTOS

Os fitonematoides representam uma grande ameaça à agricultura mundial. Entre os métodos de controle desse fitopatógeno, o controle biológico com microrganismos antagonistas, como *Bacillus* spp., tem crescido de forma expressiva nos últimos anos. Os resultados obtidos indicam que o uso do produto Auba® e do isolado *Bacillus amyloliquefaciens* CN 307 apresenta impacto relevante para o manejo biológico de *M. incognita*. Os ensaios de quimiotaxia demonstraram efeito repelente dos exsudatos radiculares e das raízes tratadas com o produto ou o isolado sobre os J2, sugerindo interferência no processo inicial de parasitismo. Além disso, a formação de biofilme observada em raízes de feijão tratadas com o produto indica possível papel protetivo associado à colonização bacteriana da rizosfera. As análises por microscopia com espectroscopia Raman evidenciaram alterações estruturais relacionadas à celulose, xilana e lignina, indicando que os tratamentos também podem atuar por meio de modificações bioquímicas nos tecidos radiculares. Esses resultados sugerem que o controle biológico não ocorre apenas por ação direta do microrganismo, mas também por modificações estruturais que podem aumentar a resistência da planta ao fitonematoide. Assim, os impactos deste estudo ampliam o conhecimento sobre agentes biológicos aplicados às culturas da soja e do feijão e fornecem bases para o desenvolvimento de estratégias mais sustentáveis de manejo de *M. incognita*, com potencial de reduzir o uso de nematicidas químicos e os impactos ambientais associados.

IMPACT INDICATORS

Plant-parasitic nematodes represent a major threat to global agriculture. Among the methods for controlling this phytopathogen, biological control with antagonistic microorganisms, such as *Bacillus* spp., has grown significantly in recent years. The results obtained indicate that the use of the product Auba[®] and the isolate *Bacillus amyloliquefaciens* CN 307 has a relevant impact on the biological management of *M. incognita*. Chemotaxis assays demonstrated a repellent effect of root exudates and roots treated with the product or isolate on J2 plants, suggesting interference in the initial parasitism process. Furthermore, the biofilm formation observed in bean roots treated with the product indicates a possible protective role associated with bacterial colonization of the rhizosphere. Microscopy analyses with Raman spectroscopy revealed structural alterations related to cellulose, xylan, and lignin, indicating that the treatments may also act through biochemical modifications in root tissues. These results suggest that biological control occurs not only through the direct action of the microorganism, but also through structural modifications that can increase the plant's resistance to the plant-parasitic nematode. Thus, the impacts of this study broaden the knowledge about biological agents applied to soybean and bean crops and provide a basis for the development of more sustainable management strategies for *M. incognita*, with the potential to reduce the use of chemical nematicides and the associated environmental impacts.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	13
3	HIPÓTESES	13
4	REFERENCIAL TEÓRICO	14
4.1	<i>Meloidogyne</i> spp. e sua relação com o hospedeiro	14
4.2	Utilização de <i>Bacillus</i> spp. no controle dos nematoides das galhas	15
4.2.1	Potenciais mecanismos de controle de <i>Bacillus</i> spp. contra os nematoides das galhas	17
4.2.1.1	Mecanismos diretos	17
4.2.1.2	Mecanismos indiretos de ação	18
5	MATERIAL E MÉTODOS	20
5.1	Inóculo de <i>Meloidogyne incognita</i>	20
5.2	Obtenção do inóculo bacteriano	20
5.3	Coleta dos exsudatos radiculares	21
5.4	Quimiotaxia de <i>M. incognita</i> para os exsudatos radiculares	21
5.5	Quimiotaxia de <i>M. incognita</i> para as raízes cultivadas <i>in vitro</i>	23
5.6	Quimiotaxia de <i>Meloidogyne incognita</i> ao produto e ao isolado	24
5.7	Ensaio de formação de biofilme	24
5.8	Efeito do produto e do isolado sobre a reprodução de <i>M. incognita</i>	25
5.9	Análise por microscopia com espectroscopia Raman de raízes de soja e feijão	25
6	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS	26
7	RESULTADOS	26
7.1	Quimiotaxia de <i>M. incognita</i> para os exsudatos radiculares	26
7.2	Quimiotaxia de <i>M. incognita</i> para as raízes cultivadas <i>in vitro</i>	27
7.3	Quimiotaxia de <i>Meloidogyne incognita</i> ao produto e ao isolado	28
7.4	Ensaio de formação de biofilme	29
7.5	Efeito do produto e do isolado sobre a reprodução de <i>M. incognita</i>	31
7.6	Análise por microscopia com espectroscopia Raman de raízes de soja e feijão	34
8	DISCUSSÃO	36
9	CONCLUSÃO	38
	REFERÊNCIAS	39

1 INTRODUÇÃO

Os fitonematoides são um dos fatores limitantes da produtividade agrícola (Sikora et al., 2018). As espécies do gênero *Meloidogyne*, comumente chamadas de nematoides das galhas, estão entre os fitonematoides de maior importância econômica (Aioub et al., 2022). Anualmente, elas são responsáveis por causar perdas estimadas em US\$ 173 bilhões em escala mundial (Elling, 2013). Quando os nematoides do gênero *Meloidogyne* parasitam as raízes e estabelecem estruturas alimentares especializadas, o principal sintoma observado é a formação de engrossamentos radiculares (galhas) nas plantas suscetíveis (Radwan et al. 2012; Aioub et al., 2022). Além dos danos ao sistema radicular, os nematoides das galhas suprimem as defesas do hospedeiro, tornando a planta mais suscetível ao ataque de outros fitopatógenos (Goverse e Smant, 2014).

As espécies *Meloidogyne incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla* são responsáveis pelos maiores prejuízos dentre os nematoides das galhas (Gao et al., 2016). Devido aos danos econômicos, o controle dos nematoides das galhas é uma demanda global (Poveda et al., 2020). Os métodos de controle incluem rotação de cultura com espécies não hospedeiras, uso de cultivares resistentes, utilização de material de propagação isento do nematoide, aplicação de nematicidas sintéticos e controle biológico. Globalmente, a aplicação de nematicidas sintéticos e a utilização de cultivares resistentes são os métodos mais utilizados pelos produtores (Mhatre et al. 2019). Entretanto, os nematicidas químicos apresentam inespecificidade de alvo biológico, alto custo e benefícios de curta duração. Muitos deles não são seletivos e podem reduzir os microrganismos do solo, incluindo os antagonistas naturais dos nematoides (Cheng et al., 2017).

O uso excessivo de nematicida sintético potencializa riscos de contaminação ambiental, por isso vários deles foram banidos do mercado (Cao et al., 2019). Um exemplo, o brometo de metila, que foi proibido na maioria dos países, fato que afetou as estratégias de controle de fitonematoides (Oka, 2010). Assim, a busca por novas estratégias de controle tem se intensificado nos últimos anos (Cheng et al., 2017). Dentre as estratégias, podemos citar o controle biológico com o uso de microrganismos antagonistas e seus metabólitos (Poveda et al., 2021). Muitos desses metabólitos têm atividade nematicida e, portanto, podem se tornar substitutos de nematicidas químicos altamente tóxicos (Zhai et al., 2018). A aplicação de

produtos biológicos tem sido considerado um método eficiente, ambientalmente correto e economicamente sustentável para o manejo de fitonematoides (Sasanelli et al., 2021).

No Brasil, atualmente, se comercializa mais nematicidas biológicos que nematicidas químicos (Machado, 2022), sendo bactérias do gênero *Bacillus* o ingrediente ativo da grande maioria dos nematicidas biológicos registrados (Agrofit, 2025). As espécies do gênero *Bacillus* são as mais utilizadas em formulações de bionematicidas, pois possuem rápido crescimento, produzem endósporos viáveis, colonizam o sistema radicular e apresentam diferentes modos de ação contra os nematoides, como a antibiose, indução de resistência sistêmica e interferência no reconhecimento das plantas hospedeiras (Vishwakarma et al., 2024).

Dentre os mecanismos de ação de *Bacillus* contra os fitonematoides, a interferência no reconhecimento das plantas hospedeiras vêm sendo estudada nos últimos anos (Cavalcanti et al., 2024). Após a eclosão há uma ocasião que é crucial para o sucesso do parasitismo dos nematoides das galhas. O nematoide precisa localizar o seu hospedeiro por meio da quimiotaxia (migração orientada em relação a um gradiente de estímulo químico) detectando quimioatraentes (Terra et al., 2023).

No solo os principais quimioatraentes são os exsudatos secretados pelas raízes das plantas, assim como substâncias produzidas por microrganismos como os compostos orgânicos voláteis (COVs) (Hu et al., 2017; Pacheco et al., 2021). Além dos COVs, os agentes de biocontrole podem liberar outras substâncias que alteram a composição do solo ou dos exsudatos radiculares, assim, interferindo na quimiotaxia dos fitonematoides (Hu et al., 2017; Li et al., 2019). Algumas bactérias do gênero *Bacillus*, podem modificar os compostos dos exsudatos radiculares tornando-os repelentes aos J2 (Hu et al. 2017; Cavalcanti et al., 2024). Por isso, entendimento sobre a quimiotaxia dos J2 é fundamental para o desenvolvimento de estratégias de controle por meio da interferência na sua orientação (Cheng et al., 2017).

Além de afetar a quimiotaxia dos J2, as espécies de *Bacillus* atuam contra os fitonematoides por meio da inibição direta que envolve a produção de compostos metabólitos com atividade nematicida (Mhatre et al., 2019). Esse processo é denominado de antibiose, definido como a síntese de compostos bioativos que apresentam efeitos tóxicos ou inibitórios sobre os nematoides (Stenberg et al., 2021). Várias espécies de *Bacillus*, como *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. mycoides* e *B. pumilus* são conhecidos como produtores eficientes de moléculas com atividade nematicida (Cawoy et al., 2011).

2 OBJETIVOS

- 1) isolar *Bacillus amyloliquefaciens* do produto comercial Auba[®] (*Bacillus amyloliquefaciens* isolado CN 307);
- 2) definir as respostas quimiotáticas do juvenil de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* aos exsudatos radiculares de diferentes espécies tratadas e não tratadas com o produto biológico Auba[®];
- 3) definir as respostas quimiotáticas do juvenil de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* aos exsudatos radiculares de diferentes espécies vegetais tratadas e não tratadas com *Bacillus amyloliquefaciens* isolado CN 307;
- 4) avaliar a eficácia do produto comercial Auba[®] na colonização e formação de biofilme em raízes de diferentes espécies vegetais;
- 5) avaliar a eficácia da formulação comercial Auba[®] no controle de *Meloidogyne incognita*, por meio da avaliação da reprodução do nematoide;
- 6) avaliar a eficiência de *Bacillus amyloliquefaciens* isolado CN 307 no controle de *Meloidogyne incognita* por meio da avaliação da reprodução do nematoide;
- 7) identificar os possíveis compostos que interferem na quimiotaxia de *M. incognita*.

3 HIPÓTESES

As hipóteses do presente estudo são que: *i*) o isolado *Bacillus amyloliquefaciens* CN 307, assim como, o produto comercial Auba[®] interferem na quimiotaxia do juvenil de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* em direção ao sistema radicular da planta hospedeira; *ii*) existe variação na capacidade de colonização do sistema radicular utilizando o produto comercial a depender da espécie vegetal; *iii*) existe variação na capacidade de *Bacillus amyloliquefaciens* isolado CN 307, assim como, do produto comercial em controlar a reprodução de *Meloidogyne incognita* em diferentes espécies vegetais.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 *Meloidogyne* spp. e sua relação com o hospedeiro

O gênero *Meloidogyne* foi descrito por Emilio Goeldi em 1887, no Brasil, para designar o grupo de fitonematoides que causava galhas radiculares no café, sendo a espécie tipo *Meloidogyne exigua* (Ferraz e Brown, 2016). Até o momento são conhecidas mais de 100 espécies no gênero *Meloidogyne* capazes de parasitar cerca de 3.000 espécies de plantas (Jagdale et al., 2021). As principais espécies são de clima tropical, como *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*, e *M. hapla* de clima temperado (Jones et al., 2013). Sendo *M. incognita* considerado o patógeno agrícola mais prejudicial no mundo, pois parasita várias culturas de importância econômica, como soja, milho, feijão, algodão, café entre outras (Ferraz e Brown, 2016; Xiang et al., 2018).

O ciclo de vida dos nematoides do gênero *Meloidogyne incognita* é de aproximadamente 30 dias com as fases de ovo, juvenil do primeiro estágio (J1), juvenil do segundo estágio (J2), juvenil do terceiro estágio (J3), juvenil do quarto estágio (J4) e adulto (Diyapoglu et al., 2022). As fêmeas de *Meloidogyne* depositam em média 500 ovos em uma massa gelatinosa produzida em suas glândulas retais (Jones et al., 2013). Essas massas são compostas por glicoproteínas, com a função de agregar e proteger os ovos na superfície externa ou no interior da raiz (Saucet, 2016).

No ovo ocorre a embriogênese resultando na formação do juvenil de primeiro estágio (J1) (Jones et al., 2013). O J1 sofre a primeira ecdise dentro do ovo e eclode como juvenil de segundo estágio (J2), o estágio infectante do gênero (Ferraz e Brown, 2016). A eclosão do J2 ocorre em condições ideais de umidade e temperaturas de aproximadamente 20 a 30 °C (Goto et al., 2013). Após encontrar a raiz, os J2 utilizam seu estilete bucal, localizado na extremidade anterior do corpo, para perfurar mecanicamente a parede celular da planta hospedeira (Jagdale et al., 2021). Além da ação mecânica do estilete, secreções enzimáticas produzidas nas glândulas esofagianas do J2 são injetadas pelo estilete na parede celular da planta. Enzimas, como endoglucanase, endoxilanase, pectatoliase, amilase, celulase e pectinase auxiliam o J2 a degradar a parede celular, facilitando a penetração, migração interna e parasitismo dos mesmos (Bartlem et al., 2013; Azlay et al., 2023). Após penetram na região da coifa ou zona de alongamento radicular, os J2 migram de forma intercelular em direção ao cilindro vascular onde, selecionam de cinco a sete células e estabelecem o sitio de alimentação (Tapia-Vázquez et al., 2022).

As secreções esofagianas injetadas no interior das células induzem a reprogramação das células para formar estruturas altamente especializadas (Siddique e Grundler, 2018). Essas estruturas são células nutridoras (células gigantes), que formam um tecido diferenciado, o cenócito, que servirá de alimento necessário ao desenvolvimento do nematoide até a fase adulta. As células gigantes possuem metabolismo ativo, citoplasma denso e núcleos expandidos (Tapia-Vázquez et al., 2022). Com a ingestão de alimento, os J2 perdem a mobilidade e tornam-se sedentários (Ferraz e Brown, 2016).

Com o desenvolvimento do nematoide, no sistema radicular surgem as galhas, resultantes de reações de hipertrofia e hiperplasia no tecido cortical adjacente ao corpo do nematoide. O J2 passa por mais três ecdises (J3 e J4) até o estágio adulto (Ferraz e Brown, 2016). Os estádios J3 e J4 não possuem estilete, portanto não se alimentam. O J4 sofre a última ecdise entrando na fase adulta, que apresenta dimorfismo sexual (Tapia-Vázquez et al., 2022). Os machos possuem forma filiforme e migram para o exterior da raiz, enquanto as fêmeas permanecem sedentárias em forma de pêra e iniciam o processo de oviposição (Aioub et al., 2022).

4.2 Utilização de *Bacillus* spp. no controle dos nematoides das galhas

O controle dos nematoides das galhas é um desafio devido à sua ampla gama de hospedeiros, curto ciclo de vida, elevada multiplicação e lacunas nas medidas de manejo. Sendo assim, a redução das populações abaixo do nível de dano econômico envolve diferentes táticas, incluindo resistência do hospedeiro (quando disponível), rotação de culturas, uso de nematicidas químicos, entre outros (Díaz-Manzano et al., 2022).

Nos últimos anos, o controle biológico tem ganhado destaque como uma estratégia promissora para o manejo de fitonematoides, sendo considerado ambientalmente seguro, economicamente viável e com menos riscos aos seres humanos e aos microrganismos não alvo. O controle biológico de fitonematoides pode ser definido como o uso de microrganismos antagonistas vivos ou seus metabólitos para suprimir a densidade populacional de fitonematoides ou reduzir a sua capacidade de causar danos. Microrganismos antagonistas aos fitonematoides são referidos como agentes de controle biológico (BCAs) (Poveda et al., 2021).

Diversas espécies do gênero *Bacillus* são úteis com BCAs, entre elas *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. firmus*, *B. thuringiensis*, *B. nematocida*, e *B. cereus* (Jamal et al., 2017). Elas podem antagonizar diretamente os fitonematoides produzindo toxinas, enzimas e outros compostos bioativos que impactam a mobilidade, o desenvolvimento

e a reprodução dos fitonematoides (Migunova e Sasanelli, 2021; Vasantha-Srinivasan et al., 2025).

As espécies de *Bacillus* também podem promover o crescimento das plantas colonizadas (Horak et al., 2019). Esse crescimento ajuda a diminuir a intensidade da doença, pois as plantas apresentam maior tolerância aos fitonematoides (Mhatre et al., 2019). Por exemplo, *Bacillus* spp. pode melhorar o crescimento das plantas por meio da fixação de nitrogênio, solubilização de fósforo, ou mitigação do impacto de alguns fatores de estresse abióticos (Saxena et al., 2020). Dessa forma, as plantas colonizadas por determinadas estirpes de *Bacillus* apresentam sintomas menos acentuados do ataque dos nematoides que plantas não colonizadas.

A colonização das raízes é uma etapa crucial para que as rizobactérias possam exercer seus efeitos benéficos, que estão associados à sua capacidade de formar biofilmes (Beauregard et al., 2013; Xu et al., 2014). Biofilmes são conjuntos de células encapsuladas em uma matriz composta de exopolissacarídeos (EPSs), proteínas e, às vezes, DNA (Morris et al., 2003; Branda et al., 2005; Beauregard et al., 2013).

Em relação aos produtos biológicos a base de *Bacillus*, alguns fatores podem interferir na sua eficácia. Entre eles, a espécie vegetal, a suscetibilidade da planta, a capacidade do BCA de se estabelecer, as condições ambientais, além da formulação comercial (Horak et al., 2019). No país, existem mais de 500 produtos registrados no Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) como insumo biológico, sendo a maior parte destinada ao controle de pragas e doenças (Embrapa, 2024).

Os registros de produtos biológicos são regulados pela Lei de Agrotóxicos (Lei nº 7.802/1989) (Embrapa, 2023). Outra via de registro de bioprodutos foi criada no início dos anos 2000, o registro de produtos para o uso na agricultura orgânica. Essa via trouxe um incremento significativo no número de produtos biológicos registrados (Embrapa, 2023). Outro avanço na legislação foi o registro de produtos biológicos levando em consideração apenas o alvo biológico, independentemente da cultura, como ocorre com os agrotóxicos (Embrapa, 2023).

Em função do alvo, os produtos biológicos são categorizados como bioinseticidas, biofungicidas, bioacaricidas e bionematicidas (Santos, 2024). Atualmente existem 116 produtos formulados e registrados na classe de bionematicidas (Agrofit, 2025). Estes bionematicidas são produtos biológicos à base de *Bacillus* spp., *Purpureocillium lilacinum*, *Paenibacillus azotoxans*, *Pasteuria nishizawae*, *Pochonia chlamydosporia*, *Priestia megaterium*, *Pseudomonas oryzihabitans* e *Trichoderma* spp. (Agrofit, 2025).

4.2.1 Potenciais mecanismos de controle de *Bacillus* spp. contra os nematoides das galhas.

4.2.1.1 Mecanismos diretos

Isolados de *Bacillus* spp. produzem e secretam uma grande variedade de substâncias químicas, incluindo metabólitos secundários e enzimas hidrolíticas com comprovada atividade nematicida (Fira et al., 2018). Os metabólitos secundários produzidos por *Bacillus* spp são biomoléculas de baixo peso molecular obtidas no final ou durante a fase estacionária do crescimento bacteriano (Horak et al., 2019).

Chung et al. (2008) relataram que *Bacillus* spp. pode produzir 24 peptídeos antimicrobianos (AMP), entre eles iturina, surfactina, bacilomicina e micosubtilina, que desempenham um importante papel no biocontrole de fitopatógenos. Os antibióticos lipopolipeptídicos como surfactina, fengicina e iturina produzidos por *B. subtilis* são responsáveis pela atividade nematicida contra *M. incognita* (Kavitha et al., 2012; Gowda et al., 2022). Em trabalho conduzido por Xiao et al., (2012), esses lipopolipeptídicos reduziram a eclosão e aumentaram a mortalidade do J2 de *M. incognita*.

As espécies de *Bacillus* também pode produzir enzimas, como quitinase e protease que tem comprovada atividade tóxica aos fitonematoides (Page et al., 2014; Chen et al., 2015; Nadeem et al., 2021). As proteases e quitinases podem hidrolisar ligações peptídicas e cadeias polissacarídicas de N-acetil-D-glucosamina, afetando a cutícula dos juvenis e ovos dos nematoides. Essas enzimas afetam os fitonematoides, pois os principais constituintes da casca do ovo e da cutícula são a quitina e membranas proteicas, respectivamente (Lee e Kim, 2016).

Os COVs emitidos por *Bacillus* spp. também apresentam atividades nematicidas, sendo que alguns deles apresentam atividades fumigantes. O efeito fumigante desses compostos é de grande importância, pois alcança os fitonematoides que estão mais distantes no solo. Esses COVs podem penetrar na cutícula do J2 ou causar sua morte por meio de mecanismos que afetam sistema nervoso, faringe, intestino ou outros tecidos (Cheng et al., 2017).

4.2.1.2 Mecanismos indiretos de ação

4.2.1.2.1 Quimiotaxia

Após a eclosão dos ovos, os juvenis, também chamados de J2 pré-parasitas, migram no solo até encontrarem as raízes das plantas hospedeiras susceptíveis para iniciar o processo de infecção (Reynolds et al., 2011). A busca pelas raízes pode durar dias, no entanto, a permanência dos J2 no solo depende de suas reservas lipídicas previamente acumuladas no intestino (Ferraz e Brown, 2016). Portanto, a quimiotaxia é fundamental para os J2 localizarem as raízes das plantas hospedeira antes que suas reservas acabem (Jones et al., 2013). A quimiotaxia pode ser definida como a orientação direta dos J2 em direção ou para longe da fonte de estímulos (Rasmann et al., 2012).

Os estímulos químicos presentes na rizosfera das plantas são reconhecidos pelos fitonematoides por meio de órgãos receptores sensoriais, como os anfídios, localizados junto aos lábios laterais, e os fasmídeos, situados lateralmente na região caudal (Terra et al., 2023). Esses estímulos são produtos químicos vegetais originários de exsudatos radiculares liberados pela planta hospedeira, assim como do metabolismo de microrganismos habitantes de solo que colonizam a superfície radicular (Dutta et al., 2012). Estudos anteriores relataram que exsudatos radiculares de plantas hospedeiras liberam estímulos que atraem os fitonematoides, enquanto substâncias de plantas não hospedeiras podem repeli-los (Reynolds et al., 2011; Wang et al., 2019; Cavalcanti et al., 2024).

Alguns estímulos são formados por atrativos de longa distância (centímetros), como os compostos orgânicos voláteis (COVs), enquanto outros constituem-se de atrativos de curta distância (milímetros), como as moléculas químicas solúveis em água (Reynolds et al., 2011). Os COVs, como salicilato de metila, d-3-careno, sabineno, 2-isopropil-3-metoxipirazina e tridecano, são exemplos de voláteis atrativos aos J2 (Sikder e Vestergard, 2020). Exsudatos solúveis em água oriundos de raízes de soja, ervilha, batata, tomate e arroz demonstraram ser atrativos os J2. Destaque para os compostos como o catecol, ácido cafeico, fenólicos e flavonoides (Tsai et al., 2020). Por outro lado, moléculas lipofílicas, como ácidos graxos voláteis, podem resultar em repelência, inibição da motilidade ou até mesmo morte dos J2 (Dutta et al., 2012).

A exsudação radicular é fundamental no processo de rizodeposição, que é uma importante fonte de carbono orgânico no solo (Liu et al., 2014). Os exsudatos radiculares são misturas altamente complexas de moléculas químicas (Feng et al., 2021). Eles são compostos por mucilagem, proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares e outros metabólitos

secundários de baixo peso molecular (Bais et al., 2006). A quantidade e a qualidade dos exsudatos radiculares são determinadas pelas espécies vegetal, intensidade luminosa, temperatura, atividades de microrganismos benéficos e patogênicos (Liu et al., 2014). Os exsudatos radiculares também desempenham um papel fundamental nos processos de sinalização entre as plantas e os microrganismos do solo (Chagas et al., 2018). Sabe-se que as bactérias do gênero *Bacillus* são atraídas para rizosfera por quimioatrativos que incluem os aminoácidos, ácidos orgânicos e açúcares (Feng et al., 2021). Esses compostos aumentam o potencial das bactérias em colonizar e formar biofilme nas raízes das plantas, fato que potencialmente pode protegê-las da ação dos fitonematoides (Melo et al., 2021).

Fitonematoides de determinados gêneros requerem a presença de fatores específicos nos exsudatos da planta hospedeira para estimular a eclosão, um exemplo o gênero *Heterodera*. Da mesma forma, a fase infectiva dos nematoides necessitam de estímulos específicos para encontrar o local de penetração nas raízes. Portanto, os exsudatos radiculares podem afetar a eclosão e a capacidade de identificar hospedeiros adequados (Sikora et al., 2007). Estudos relataram que alterações na composição dos exsudatos radiculares são uma forma de biocontrole por meio da interferência na quimiotaxia (Dutta et al., 2012; Hu et al., 2017). Cavalcanti et al. (2024) demonstraram que os exsudatos radiculares da alface (*Lactuca sativa*) são atrativos aos J2 de *M. incognita*. Entretanto, a aplicação de um produto comercial a base de *Bacillus subtilis* nas raízes torna seus exsudatos repelentes aos J2 de *M. incognita*. A colonização do sistema radicular por *B. cereus* induziu as raízes do tomateiro a produzir maiores quantidades de 3,3-dimetiloctano e n-tridecano, tornando-as repelentes a *M. incognita* (Li et al., 2019). As espécies de *Bacillus* também podem emitir COVs para atrair ou repelir os fitonematoides (Gattoni et al., 2023). Por exemplo, a emissão de 2-nonanona e 2-decanona por *Paenibacillus polymyxa*, atraíram os J2 para próximo da bactéria. Contudo, conforme os J2 se aproximaram da bactéria eles eram mortos devido a exposição a alta concentração dos compostos em uma estratégia conhecida como “honey trap” (Cheng et al., 2017).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Inóculo de *Meloidogyne incognita*.

Os ovos de *M. incognita* foram obtidos de população pura multiplicada em plantas de tomateiro (*Solanum lycopersicum*), cultivar Santa Clara, mantidas em casa de vegetação, do laboratório de Nematologia. A pureza do inóculo utilizado foi confirmada por eletroforese isoenzimática (Carneiro e Almeida 2001). Para obter a suspensão de ovos foi utilizada a técnica de Hussey e Barker (1973). As raízes foram cuidadosamente lavadas em água parada, cortadas em pedaços de aproximadamente 2 cm e trituradas em liquidificador com solução de hipoclorito de sódio 0,5% por, aproximadamente, 30 s. A suspensão foi vertida em uma peneira de 0,074 mm sobre outra de 0,025 mm de abertura, os ovos ficaram retidos na última peneira. A suspensão de ovos foi colocada em tubos de centrifuga com aproximadamente 3 g de caulim, para a limpeza seguindo a técnica de Coolen e D' Herde (1972).

Após a centrifugação, os ovos foram colocados em câmara de eclosão, utilizando-se a técnica de funil de Baermann (1917). Os J2 eclodidos utilizados para os ensaios foram coletados entre 48 h – 72 h após a montagem da câmara de eclosão. Para calibrar a suspensão, os J2s foram transferidos para câmara de Peters e quantificados em microscópio de objetiva invertida.

5.2 Obtenção do inóculo bacteriano

O microrganismo utilizado nos experimentos foi isolado do produto comercial Auba[®] por meio do método de estrias paralelas realizadas em placas de Petri, de 9 cm de diâmetro, contendo meio de cultura ágar nutriente (AN). As placas foram vedadas e incubadas em câmara de crescimento a 28 °C por 48 h. Após este período, uma colônia pura do isolado bacteriano foi transferida para frascos de vidro contendo 50 mL de caldo nutriente e levados para um agitador a 170 rpm e temperatura de 28 °C por 24 h. Após esse período, a suspensão foi filtrada em uma gaze e foram transferidos aproximadamente 40 mL para tubos de centrifuga. Na sequência, a suspensão foi centrifugada por 20 min a 4000 rpm. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e os esporos bacterianos foram suspensos em solução salina estéril a 0,85%. A suspensão salina contendo os esporos foi transferida para tubos de ensaio que foram agitados até formar uma suspensão homogênea. A suspensão bacteriana utilizada foi ajustada, em espectrofotômetro,

para $OD_{600}=0,7$ (10^8 UFC/mL). O isolado *B. amyloliquefaciens* CN-307 foi preservado em meio Peptona-glicerol e armazenado a -20 °C para o uso em experimentos posteriores.

5.3 Coleta dos exsudatos radiculares

Os exsudatos radiculares foram coletados de acordo com a metodologia desenvolvida por Wang et al. (2019). Para isso, 5 g de sementes de soja, cv. M 6410 IPRO, feijão, cv. 2051, e milho híbrido P 3707VYHC1, foram previamente desinfestadas em hipoclorito de sódio 1% por 30 s e lavadas em água destilada estéril três vezes por 5 min (Yaryura et al., 2008). Em seguida, as sementes de cada espécie vegetal foram tratadas por 10 min com 1 mL de suspensão de cada tratamento (20 μ L + 980 μ L de água destilada) de acordo com a recomendação da bula do produto comercial Auba[®] (2 a 4 mL/kg de sementes). Após o tratamento, as sementes foram depositadas em bandejas de isopor preenchidas com uma mistura (1:1) dos substratos (Carolina Soil[®] e Tropstrato[®]). Os tratamentos foram: 1) sementes tratadas com Auba[®]; 2) sementes tratadas com o isolado *B. amyloliquefaciens* CN 307; e 3) sementes tratadas com água destilada estéril. Após 15 dias, as raízes foram lavadas em água destilada estéril e submersas em frascos de vidros com aproximadamente 30 mL de água destilada estéril para coleta dos exsudatos. Os frascos receberam 3 raízes de cada tratamento. As plantas ficaram com a parte aérea para fora e os frascos foram envoltos com papel alumínio para proteger as raízes da luz. Os frascos foram colocados em uma bandeja com água para manter a umidade e mantidos em bancada na casa de vegetação por 24 h. Após esse período, os exsudatos foram coletados separadamente, filtrados utilizando membrana millipore de 0.22 μ m de diâmetro de poro, transferidos para tubos Falcon e congelados a -20 °C até serem levados ao Laboratório de Química, da Universidade Federal de Lavras, para a liofilização.

5.4 Quimiotaxia de *M. incognita* para os exsudatos radiculares.

Os ensaios de quimiotaxia foram realizados de acordo com o método descrito por Wang et al. (2019). Placas de Petri foram preenchidas com aproximadamente 10 mL de meio ágar-água 2%, e então divididas em área teste (A), neutra (B) e controle (C) (Figura 1). A distância das áreas A e C até as bordas da área neutra (B) foi de 2 cm. Para o primeiro ensaio de quimiotaxia, foram utilizados exsudatos radiculares das raízes de milho, feijão e soja tratadas e não tratadas. Para isso, os exsudatos radiculares liofilizados, foram ressuspensos em 500 μ L de

água destilada estéril e uma alíquota de 30 μL do exsudato radicular de cada tratamento foi pipetado na área A. Em B foram adicionados 30 μL com os 100 J2 de *M. incognita* e em C 30 μL do exsudato radicular da raiz não tratada. As testemunhas receberam exsudatos radiculares de raízes não tratadas. Todos os ensaios de quimiotaxia foram avaliados após 18h da inserção dos J2 no meio. O número de J2 da área A e C foram quantificados e os índices de quimiotaxia (IC) foram calculados subtraindo o número de J2 na área A daquele na área C e dividindo pelo total de J2 fora da área neutra (B) (Bargmann et al., 1993). Se $\text{IC} \geq 0,2$, os exsudatos foram considerados altamente atrativos, $0,1 \leq \text{IC} < 0,2$ foram considerados levemente atrativos, $-0,1 \leq \text{IC} < 0,1$, foram considerados como resposta aleatória, $-0,2 < \text{IC} < -0,1$, foram considerados repelentes e $\text{IC} \leq -0,2$ como altamente repelente (Wang et al., 2019).

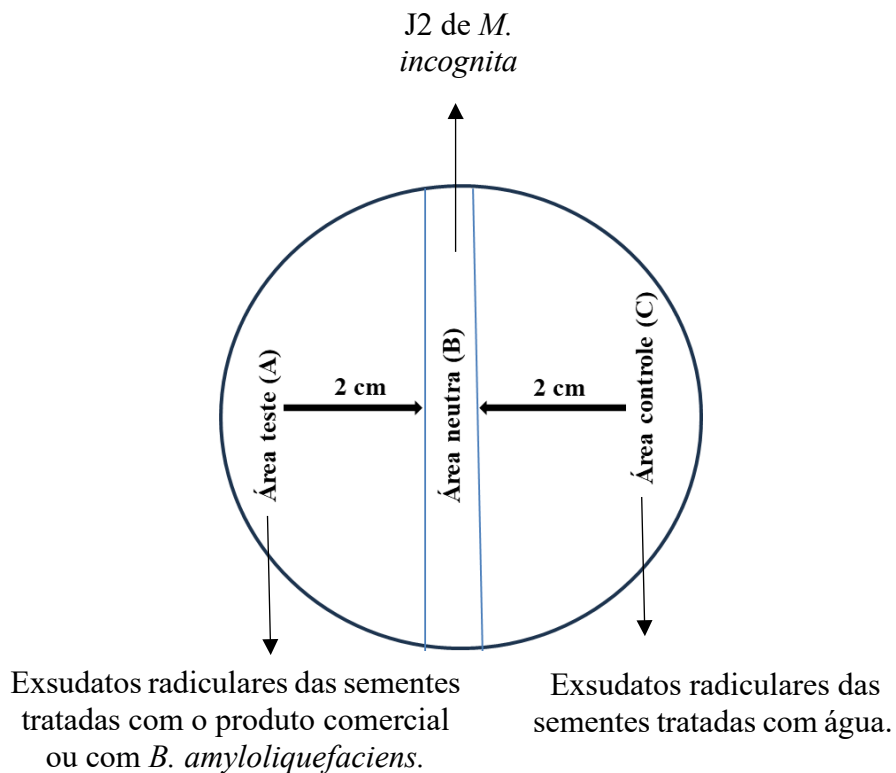


Figura 1. Esquema do ensaio de quimiotaxia para juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* em uma placa de Petri. Três áreas distintas foram definidas: (A) área teste; (B) área neutra e (C) área de controle. Foram depositados no centro da área B 100 J2. Foram transferidos 30 μL do exsudato radicular da semente exposta ao produto comercial ou ao isolado bacteriano por 10 min para área A e na área C foram depositados 30 μL do exsudato radicular da semente tratada com água (controle). Após 18 h, o número de J2 em cada área foi quantificado para se obter o IC.

5.5 Quimiotaxia de *M. incognita* para as raízes cultivadas *in vitro*.

As sementes de soja, milho e feijão foram desinfestadas e tratadas por 10 min em 1 mL de suspensão bacteriana conforme descrito no item (5.3). Após o tratamento, as sementes foram distribuídas em placas de Petri preenchidas com meio ágar-água 2%. Na área teste (A) depositou-se a semente tratada com a suspensão de *B. amyloliquefaciens* ou com o produto comercial e em C inseriu-se a semente que recebeu apenas água destilada estéril (Figura 2). Como testemunha utilizou-se apenas sementes não tratadas. Na sequência, as placas de Petri com as sementes foram transferidas para câmara de crescimento a 27 °C por 5 dias. Após a germinação, foram adicionados 30 µL com 100 J2 de *M. incognita* na área neutra (B). Após 18 h, foi avaliada a quimiotaxia, seguindo a metodologia de (Bargmann et al., 1993).

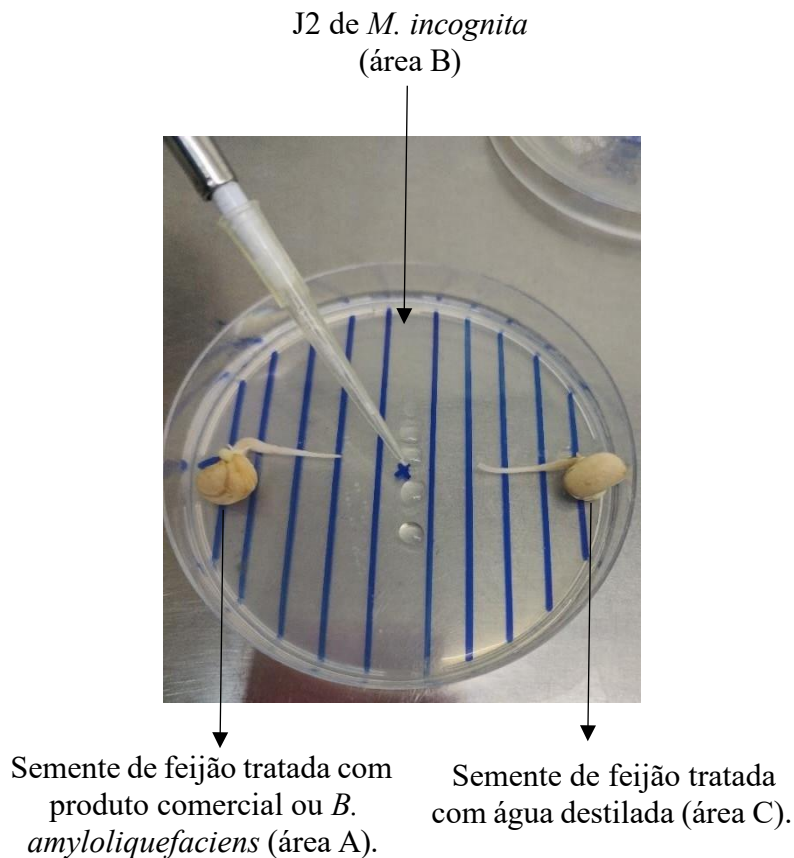


Figura 2. Esquema do ensaio de quimiotaxia para juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* em uma placa de Petri. Três áreas distintas foram definidas: (A) área teste; (B) área neutra e (C) área de controle. Foram transferidos no centro da área B 100 J2. As sementes expostas ao produto comercial ou ao isolado bacteriano por 10 min foram transferidos para área A e na área C ficou apenas as sementes tratadas com água (controle). Após 18 h, o número de J2 em cada área foi quantificado para o IC.

5.6 Quimiotaxia de *Meloidogyne incognita* ao produto e ao isolado.

Seguindo a metodologia apresentada anteriormente, foi avaliada a quimiotaxia dos J2 de *M. incognita* ao produto comercial Auba[®] e ao seu ingrediente ativo *B. amyloliquefaciens* CN 307. Para tanto, foi realizado um orifício de 2 cm de diâmetro na área A do meio ágar-água que posteriormente foi preenchido com aproximadamente 2 mL de ágar nutriente (AN). Então, em A foram adicionados 30 µL da suspensão de *B. amyloliquefaciens* isolado CN 307 ou do produto comercial. Em C foram adicionados 30 µL de água destilada e B recebeu os 100 J2 de *Meloidogyne incognita*. Para o controle foram utilizados os 100 J2 de *M. incognita* depositados na área B com meio AN e meio ágar-água em cada um dos lados da placa.

5.7 Ensaio de formação de biofilme

O ensaio foi realizado de acordo com a metodologia de Moreira et al. (2025). As sementes de soja, feijão e milho previamente desinfestadas e tratadas com o produto comercial, foram colocadas para germinar em placas de Petri, de 9 cm de diâmetro, preenchidas com meio ágar-água, incubadas em câmara de crescimento a 27 °C por 5 dias. Após este período, as raízes foram cortadas em seções de aproximadamente 2 mm e fixadas em solução de Karnovsky (2,5% de glutaraldeído, 2,5% de formaldeído em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, pH 7,5). Após 24 h, os tecidos foram lavados três vezes por 10 min em tampão cacodilato de sódio 0,05 M, pH 7,5. Posteriormente, as amostras foram desidratadas com soluções de concentrações crescentes de acetona (25%, 50%, 75%, 90% e 100%, 10 min cada). O tratamento com acetona 100% foi realizado três vezes por 10 min cada, seguido de secagem usando um aparelho de secagem de ponto crítico. As amostras foram metalizadas com ouro usando um aparelho de pulverização catódica e observadas em um microscópio eletrônico de varredura por emissão de campo Tescan Clara no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, Brasil.

5.8 Efeito do produto e do isolado sobre a reprodução de *M. incognita*.

As sementes de soja e feijão foram desinfestadas conforme descrito anteriormente. Então receberam os seguintes tratamentos: 1) Auba[®]; 2) *B. amyloliquefaciens* CN 307 ou; 3) testemunha (água). O experimento foi realizado com 6 repetições. As sementes foram tratadas por 10 min em 1mL (20 µL + 980 µL de água destilada) de suspensão de cada um dos tratamentos. O substrato utilizado para o plantio foi constituído de uma mistura (1:1) dos substratos (Carolina Soil[®] e Tropstrato[®]). Esse substrato foi previamente infestado com 6000 ovos de *M. incognita*. Em seguida, as sementes de cada cultura foram depositadas nos copos plásticos de 400 ml. Os copos ficaram na casa de vegetação por 60 dias. As plantas foram adubadas semanalmente com 10 mL do fertilizante comercial Forth[®] hortaliças. Após 60 dias, foi avaliado o número de ovos e galhas por grama de raiz.

5.9 Análise por microscopia com espectroscopia Raman de raízes de soja e feijão

Para as análises foi utilizado um sistema de Microscopia Confocal Raman - modelo WITec alpha300, marca WITec, utilizando Laser 785 nm com objetivas de 10 e 50 vezes. As sementes de feijão e soja foram submetidas a três tratamentos: 1) produto comercial Auba[®]; 2) *B. amyloliquefaciens* CN 307; ou 3) testemunha (água). Após a aplicação dos tratamentos, as sementes foram colocadas para germinar em Placas de Petri e mantidas em incubadora, a 27 °C por 5 dias. Ao final desse período, segmentos de 2 cm das raízes foram removidos com bisturi estéril e posicionados sobre lâminas de microscopia para a aquisição dos espectros.

Para a obtenção da amostra bacteriana, o isolado de *B. amyloliquefaciens* foi cultivado em meio Ágar Nutriente (NA), utilizando a técnica de estrias paralelas. As placas foram incubadas a 27 °C por 48 horas. Após esse período, uma colônia pura foi selecionada e analisada diretamente na própria placa de Petri, posicionada no microscópio Raman. Para cada amostra, raiz ou colônia bacteriana, selecionou-se um ponto focal central, a partir do qual foram adquiridos 20 espectros Raman. Cada espectro foi coletado com tempo de integração de 120 s.

6 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISES ESTATÍSTICAS.

Todos os ensaios foram realizados em delineamento inteiramente casualizados, com 6 repetições para cada tratamento. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade (ShapiroWilk) e de homogeneidade (Barlett). Os dados que não atenderam aos pressupostos de normalidade e homogeneidade foram transformados. Os números de galhas por grama e ovos por grama foram transformados para $\sqrt{(x)}$. Os dados transformados foram submetidos ao teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). As análises estatísticas foram realizadas no software Sisvar. Para o ensaio de quimiotaxia foi realizado o cálculo de índice de quimiotaxia. $IC = (\text{número de J2 na área A} - \text{número de J2 na área C}) / (\text{número de J2 na área A} + \text{número de J2 na área C})$.

7 RESULTADOS

7.1 Quimiotaxia de *M. incognita* para os exsudatos radiculares.

De acordo com o índice de quimiotaxia, em ambos os ensaios os exsudatos radiculares do milho não afetaram a migração dos J2, uma vez que eles se moveram aleatoriamente ($-0,1 \leq IC < 0,1$). Da mesma forma, os exsudatos radiculares da soja e do feijão não afetaram os nematoides no primeiro ensaio. Por outro lado, os exsudatos radiculares da soja e do feijão foram atraentes aos J2s no segundo ensaio (tabela 1). Nos dois ensaios, os exsudatos radiculares obtidos de raízes de soja, feijão e milho tratadas com *B. amyloliquefaciens* CN-307 foram altamente repelentes aos J2s de *M. incognita*, com exceção ao exsudato da soja no segundo ensaio, que foi apenas repelente. A mesma tendência foi observada com a aplicação da formulação comercial contendo *B. amyloliquefaciens* CN-307, uma vez que, os exsudatos do milho foram altamente repelentes, assim como do feijão no primeiro ensaio. Entretanto, nos dois ensaios, atratividade/repelência dos exsudatos da soja não foi afetada pela aplicação do produto comercial.

Tabela 1. Índice de quimiotaxia dos juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* em resposta aos exsudatos radiculares de diferentes espécies vegetais. Trinta microlitros do exsudato radicular da semente exposta ao produto comercial ou ao isolado bacteriano por 10 min foram transferidos para área A e na área C foram depositados 30 µL do exsudato radicular da semente não tratada (controle). Então, foram depositados no centro da área B 100 J2. Após 18 h, o número de J2 em cada área foi quantificado para se obter o IC.

Tratamentos	Índice de quimiotaxia		
	Experimento 1		
	Soja	Feijão	Milho
I) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-307	-0,20	-0,27	-0,38
II) Produto comercial Auba®	0,03	-0,20	-0,31
III) Somente exsudatos radiculares	-0,10	0,05	-0,10
IV) Exsudatos radiculares - exsudatos radiculares	-0,07	-0,08	0,01
	Experimento 2		
	Soja	Feijão	Milho
I) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-307	-0,13	-0,21	-0,41
II) Produto comercial Auba®	0,19	-0,12	-0,40
III) Somente exsudatos radiculares	0,17	0,10	0,09
IV) Exsudatos radiculares - exsudatos radiculares	-0,12	-0,09	-0,08

7.2 Quimiotaxia de *M. incognita* para as raízes cultivadas *in vitro*.

Nos dois ensaios, os J2 de *M. incognita* não foram atraídos pelas raízes de soja, feijão e milho, pois apresentaram movimento aleatório quando observamos os exsudatos de raízes não tratadas (testemunha) (Tabela 2). Por outro lado, a aplicação de *B. amyloliquefaciens* CN-307 tornou as raízes das três culturas altamente repelentes aos J2s. A mesma tendência foi observada com a aplicação do produto comercial no feijão e no milho, uma vez que as raízes foram altamente repelentes. A aplicação do produto comercial tornou as raízes de soja apenas repelentes aos J2s. No tratamento controle, no qual raízes de um mesmo tratamento foram colocadas nas extremidades opostas das placas observou-se movimento aleatório dos J2s.

Tabela 2. Índice de quimiotaxia dos J2 de *Meloidogyne incognita* em resposta as raízes cultivadas *in vitro* de diferentes espécies vegetais. A semente exposta ao produto comercial ou ao isolado bacteriano por 10 min foi transferida para área A e na área C ficou a semente não tratada (controle). Então, foram depositados no centro da área B 100 J2. Após 18 h, o número de J2 em cada área foi quantificado para se obter o IC.

Tratamentos	Índice de quimiotaxia		
	Experimento 1		
	Soja	Feijão	Milho
I) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-307	-0,23	-0,37	-0,33
II) Produto comercial Auba®	-0,18	-0,41	-0,31
III) Somente sementes não tratadas	0,01	-0,02	0,01
IV) Sementes não tratadas - sementes não tratadas	-0,09	-0,12	-0,10
	Experimento 2		
	Soja	Feijão	Milho
I) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-307	-0,25	-0,36	-0,34
II) Produto comercial Auba®	-0,14	-0,40	-0,27
III) Somente sementes não tratadas	-0,09	0,22	-0,07
IV) Sementes não tratadas – sementes não tratadas	-0,08	-0,11	-0,08

7.3 Quimiotaxia de *Meloidogyne incognita* ao produto e ao isolado

Nos dois ensaios, *B. amyloliquefaciens* CN-307 e o produto comercial foram altamente repelentes aos J2s de *M. incognita*. No tratamento controle, em que placas foram preenchidas com meio Agar e não receberam aplicação do isolado bacteriano e do produto comercial, o movimento dos J2s foi aleatório. O mesmo foi observado quando nas extremidades da placa foi colocado o meio NA (Tabela 3).

Tabela 3. Índice de quimiotaxia dos juvenis de segundo estágio (J2) de *Meloidogyne incognita* ao produto comercial e ao isolado bacteriano. Placas de Petri preenchidas com 10 mL de ágar-água foram divididas em (A) área teste; (B) área neutra e (C) área de controle. Orifícios de 2 cm de diâmetro foram realizados em A e C e preenchidos com aproximadamente 2 mL de ágar nutriente (AN). Na área A foram adicionados 30 µL da suspensão de *B. amyloliquefaciens* isolado CN 307 ou do produto comercial. Em C, 30 µL de água destilada; e na área B os 100 J2 de *Meloidogyne incognita*. Para o controle, foram utilizados os 100 J2 de *M. incognita* depositados na área B com meio AN e meio ágar-água em cada um dos lados da placa.

Tratamentos	Índice de quimiotaxia	
	Experimento 1	Experimento 2
I) <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> CN-307	-0,92	-0,88
II) Produto comercial Auba®	-0,88	-0,89
III) Meio NA - Meio NA	0,03	0,07
IV) Somente meio Ágar	-0,05	0,05

7.4 Ensaio de formação de biofilme

O tratamento das sementes de feijão com o produto comercial resultou em formação de biofilme na superfície das radículas, como observado por microscopia eletrônica de varredura (Figura 4). Entretanto, não foi observada a presença de biofilme nas raízes de soja e milho.

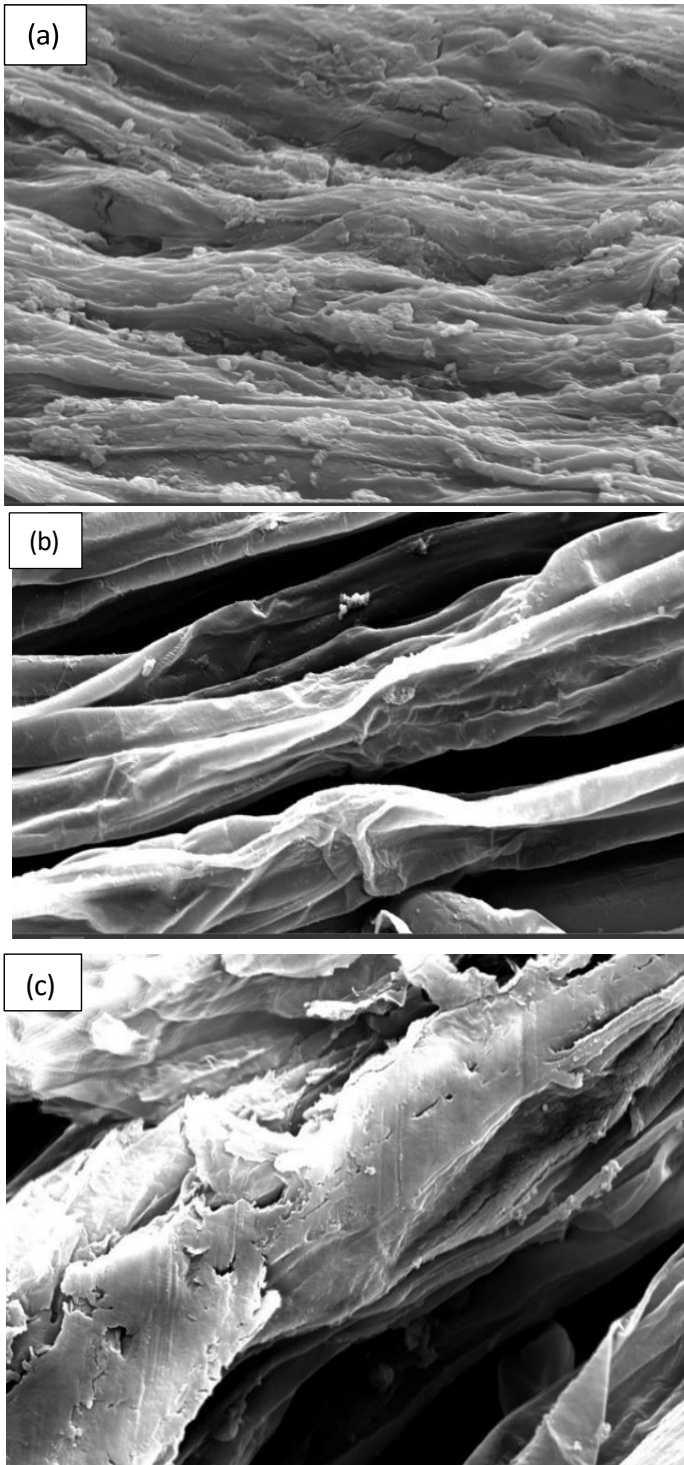
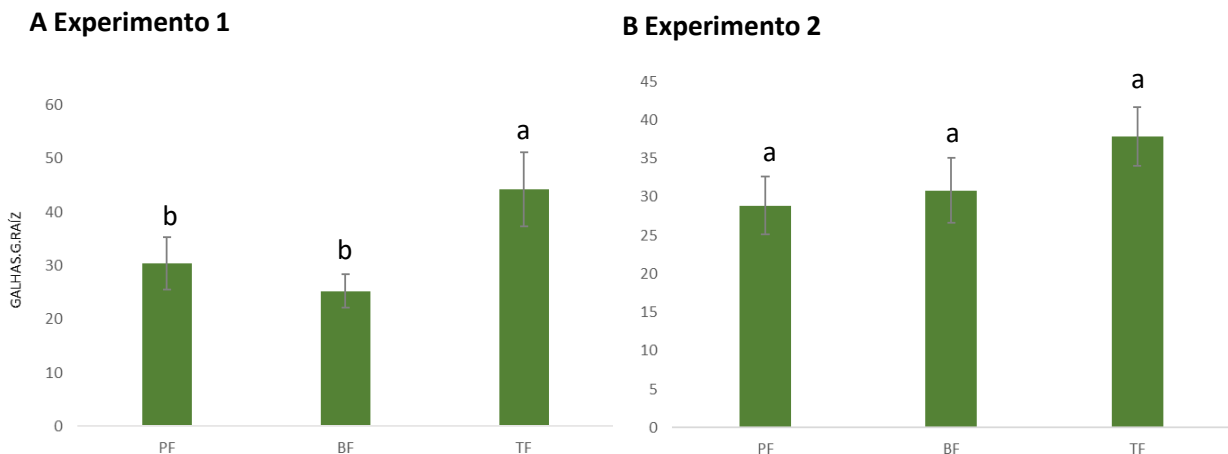


Figura 4. Micrografia eletrônica de varredura do biofilme formado pelo produto comercial em rizoplano de feijão, milho e soja. (a) Formação de biofilme em raízes de feijão (barra de escala, 20 μm); (b) Ausência de biofilme em raízes de milho (barra de escala, 20 μm); (c) Ausência de biofilme em raízes de soja (barra de escala, 20 μm).

7.5 Efeito do produto e do isolado sobre a reprodução de *M. incognita*

Foram realizados dois experimentos para estudar o efeito do bionemacida Auba[®] ou o seu isolado *B. amyloliquefaciens* CN 307 sobre a reprodução de *M. incognita* em cultivares de feijão e soja. No feijão, no primeiro experimento, tanto o bionemacida quanto o isolado reduziram significativamente ($P < 0,05$) o número de galhas por grama de raiz em 31,24% e 42,96%, respectivamente, em relação à testemunha (Figura 5A). No segundo experimento, não houve redução significativa no número de galhas/g ($P > 0,05$) (Figura 5B). O número de ovos por grama foi reduzido em 55,32% pelo bionemacida e em 40% pelo isolado no primeiro experimento (Figura 5C). No segundo experimento, as reduções de ovos/g pelo bionemacida ou seu isolado foram de 59,78% e 32,14%, respectivamente (Figura 5D).

Na soja, no primeiro experimento, não houve redução significativa no número de galhas por grama ($P > 0,05$) (Figura 6A). No segundo experimento, as reduções no número de galhas/g foram de 38,33% com o produto e 27,80% com o isolado (Figura 6B). Para o número de ovos/g a redução foi de 64,18% e 38,31% com o bionemacida ou seu isolado, respectivamente no primeiro experimento (Figura 6C), entretanto no segundo experimento não houve redução significativa no número de ovos/g (Figura 6D).



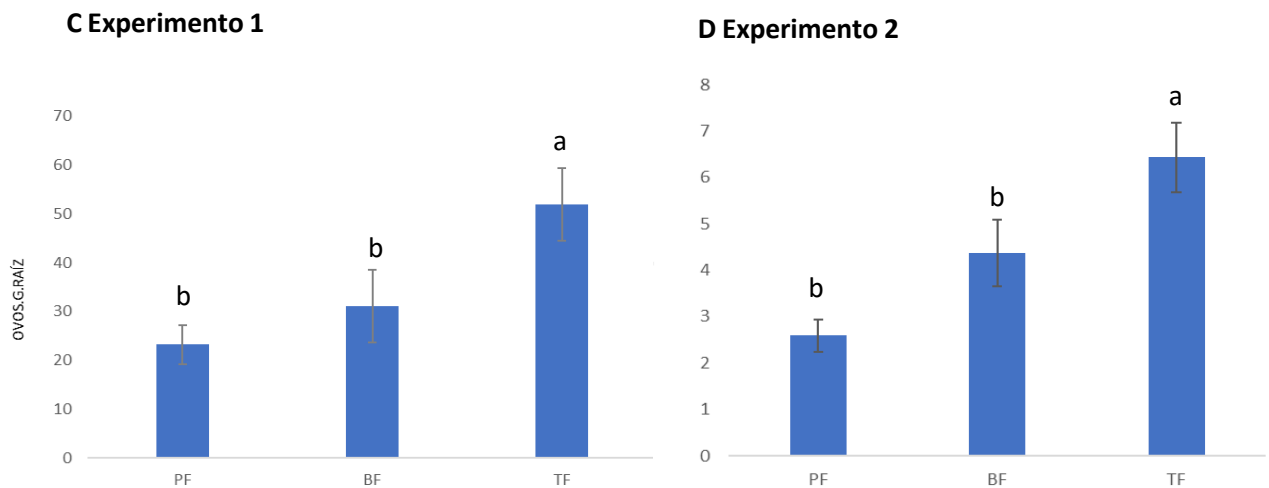


Figura 5. Efeito do produto comercial Auba[®] ou o seu isolado *B. amyloliquefaciens* CN 307 sobre a reprodução de *M. incognita*. (A e B) número de galhas por grama de raiz. (C e D) número de ovos por grama de raiz. As sementes de feijão foram tratadas com produto comercial Auba[®] (PF) ou o seu isolado *B. amyloliquefaciens* CN 307 (BF) e a testemunha (TF) foi tratada com água. Após o plantio, o substrato foi infestado com 6000 ovos de *M. incognita*. As plantas de feijão foram mantidas em casa de vegetação e avaliadas após 60 dias. Médias com a mesma letra não diferem significativamente ($P < 0,05$) pelo teste de Scott-Knott. Os valores são médias de seis repetições. As barras representam o erro padrão das médias.

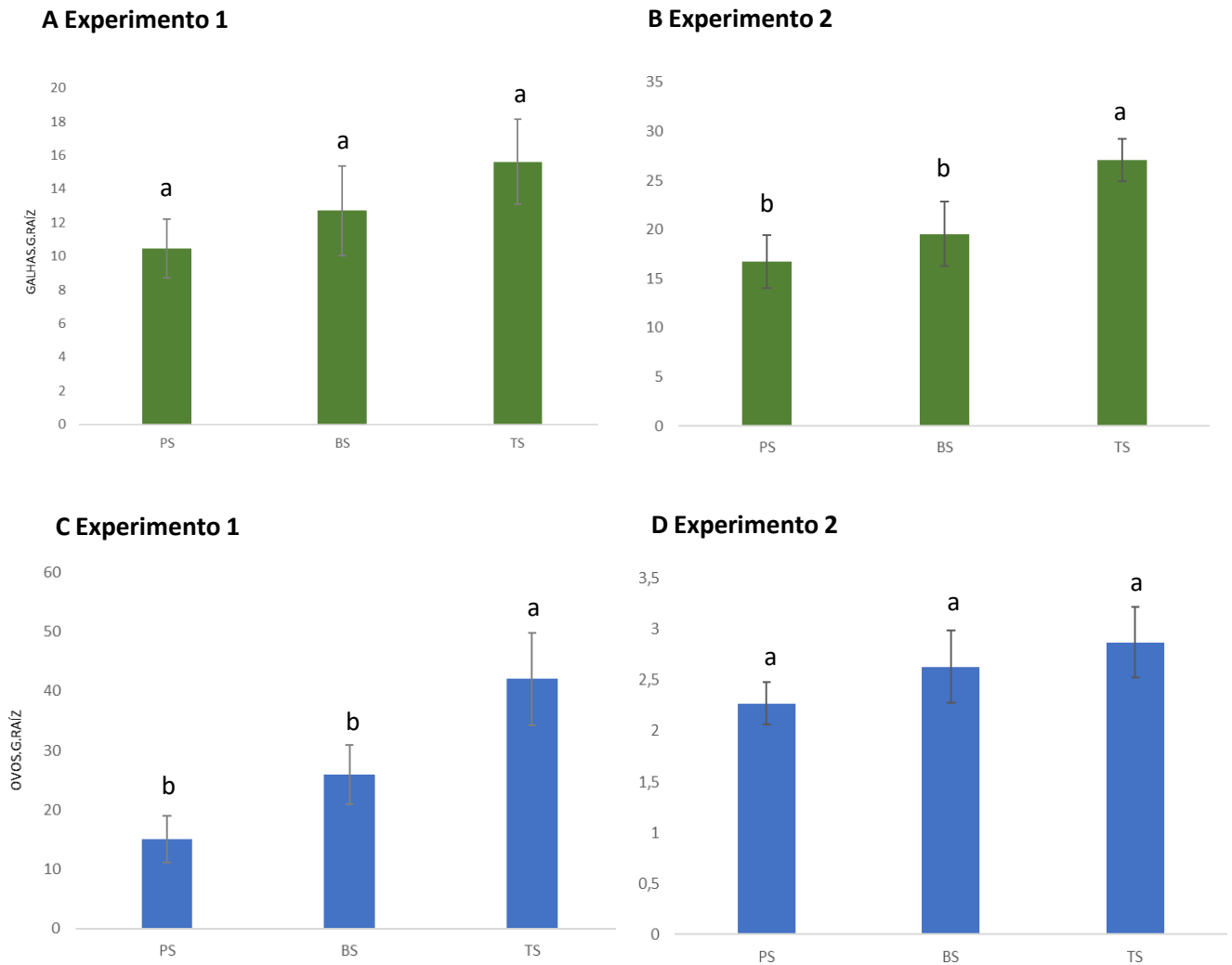


Figura 6. Efeito do produto comercial Auba[®] ou o seu isolado *B. amyloliquefaciens* CN 307 sobre a reprodução de *M. incognita*. (A e B) número de galhas por grama de raiz. (C e D) número de ovos por grama de raiz. As sementes de soja foram tratadas com produto comercial Auba[®] (PS) ou o seu isolado *B. amyloliquefaciens* CN 307 (BS) e a testemunha (TS) foi tratada com água. Após o plantio, o substrato foi infestado com 6000 ovos de *M. incognita*. As plantas de soja foram mantidas em casa de vegetação e avaliadas após 60 dias. Médias com a mesma letra não diferem significativamente ($P < 0,05$) pelo teste de Scott-Knott. Os valores são médias de seis repetições. As barras representam o erro padrão das médias.

7.6 Análise por microscopia com espectroscopia Raman de raízes de soja e feijão.

Os espectros Raman obtidos a partir da colônia do isolado *B. amyloliquefaciens* apresentaram picos identificados como 1006 cm^{-1} , 1230–1295 cm^{-1} , 1451 cm^{-1} , 1569 cm^{-1} e 1650–1680 cm^{-1} (Figura 7A).

As raízes de soja e feijão tratadas com o bionemático ou com *B. amyloliquefaciens* apresentaram picos predominantes nas regiões 1045–1165 cm^{-1} , 1238–1522 cm^{-1} e 1549–1702 cm^{-1} (Figuras 7B e 7C).

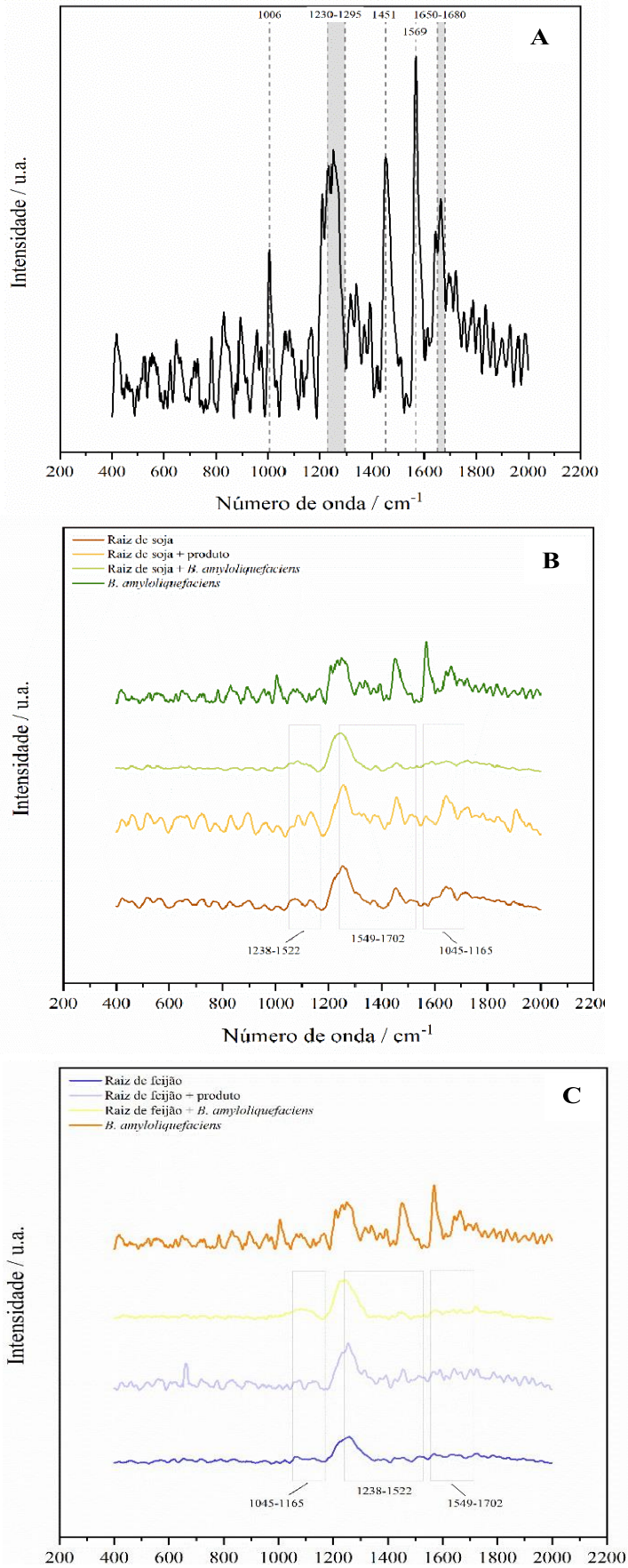


Figura 7. Espectros Raman do isolado *B. amyloliquefaciens* e de raízes de diferentes culturas vegetais. (A) Espectro do isolado *B. amyloliquefaciens*. (B) Espectros das raízes de soja, tratadas e não tratadas com *B. amyloliquefaciens* ou com o produto comercial Auba[®] (C) Espectros das raízes de feijão, tratadas e não tratadas com *B. amyloliquefaciens* ou com o produto comercial Auba[®].

8 DISCUSSÃO

O sucesso da infecção por *Meloidogyne incognita* depende da capacidade dos juvenis de segundo estágio (J2) de localizar raízes hospedeiras, guiados por sinais químicos presentes nos exsudatos radiculares (Rasmann et al., 2012). Os resultados do presente estudo indicam que tanto o isolado *B. amyloliquefaciens*, quanto o produto comercial Auba[®], interferem nesse processo, modificando os exsudatos e alterando a resposta quimiotática dos J2.

Nos ensaios de quimiotaxia utilizando exsudatos radiculares, os J2 apresentaram comportamento altamente repelente em feijão e milho após o tratamento com o isolado ou produto comercial. Da mesma forma, Cavalcanti et al. (2024) demonstraram que *B. subtilis* induziu alterações metabólicas em exsudatos radiculares que alteraram as respostas quimiotáticas de *M. incognita* em plantas hospedeiras (alface) e não hospedeiras (alho).

Em ensaios com raízes cultivadas *in vitro*, tanto o isolado quanto o produto comercial induziram respostas repelentes em todas as culturas. Estes resultados corroboram com aqueles que vêm sendo obtidos por diferentes grupos de pesquisa (Hu et al., 2017; Messa et al., 2019; Li et al., 2023; Moreira et al., 2025). Por exemplo, Zhao et al., 2022 demonstraram que *Bacillus* spp. pode tornar as plantas de tomate repulsivas aos J2, alterando a composição dos exsudatos radiculares ou por meio da indução de resistência sistêmica.

Nos estudos *in vitro* com o isolado ou o produto, os J2 também apresentaram comportamento repelente, sugerindo que, mesmo na ausência da planta hospedeira, a bactéria pode afetar o comportamento dos J2. Possivelmente isso ocorre por meio da liberação de compostos orgânicos voláteis (COVs) que causam mortalidade dos J2 por contato ou fumigação (Cheng et al., 2017).

A formação de biofilme foi observada apenas nas raízes de feijão, funcionando como uma barreira física adicional à penetração dos J2. No entanto, não foi observada a formação de biofilme nas raízes de soja e milho após o tratamento de sementes com o produto comercial Auba[®]. Resultados distintos foram relatados por Moreira et al (2025), que observaram a formação de biofilme em raízes de soja tratadas com *B. amyloliquefaciens*, possivelmente a ausência de biofilme pode estar associada às diferenças na cultivar utilizada. Apesar da ausência de biofilme em soja e milho, os J2 apresentaram comportamento repelente nessas culturas, indicando que alterações nos exsudatos radiculares ou a liberação de compostos tóxicos pela bactéria contribuem significativamente para o controle biológico. Esses resultados reforçam que os mecanismos de ação de *B. amyloliquefaciens* são múltiplos, envolvendo tanto barreiras químicas quanto físicas.

Nos ensaios de reprodução, tanto o isolado quanto o produto comercial reduziram o número de galhas e ovos de *M. incognita*, sendo as maiores reduções da reprodução em feijão, possivelmente devido à combinação formação de biofilme, liberação de compostos tóxicos e alterações químicas nos exsudatos radiculares. Enquanto na soja, o efeito foi maior para o número de ovos no experimento 1 e para número de galhas no experimento 2. Indicando que os mecanismos de controle podem diferir conforme a interação microrganismo-hospedeiro (Sikora et al., 2007).

Os espectros Raman obtidos a partir da colônia do isolado *B. amyloliquefaciens* apresentaram picos identificados como 1006 cm^{-1} (fenilalanina), $1230\text{--}1295\text{ cm}^{-1}$ (amida III), 1451 cm^{-1} (C-H₂), 1569 cm^{-1} (guanina e adenina) e $1650\text{--}1680\text{ cm}^{-1}$ (amida I). Esses picos representam proteínas, aminoácidos, lipídios de membrana e ácidos nucleicos, sendo compatíveis com células bacterianas metabolicamente ativas (Maquelin et al., 2002).

As raízes de soja e feijão tratadas com o produto ou com *B. amyloliquefaciens* apresentaram bandas Raman predominantes nas regiões $1045\text{--}1165\text{ cm}^{-1}$, $1238\text{--}1522\text{ cm}^{-1}$ e $1549\text{--}1702\text{ cm}^{-1}$. Essas bandas correspondem, respectivamente, à celulose e xilana, à celulose e à lignina (Boersma et al., 2022).

Nas raízes de soja, os tratamentos com o produto ou com o isolado bacteriano resultaram em aumento expressivo da intensidade das bandas entre $1549\text{--}1702\text{ cm}^{-1}$, indicando maior teor de lignina na parede celular. Considerando que a fenilalanina é o principal precursor da via dos fenilpropanoides, responsável pela biossíntese da lignina, e que a enzima fenilalanina amônia-liase (PAL) catalisa a conversão da fenilalanina em ácido trans-cinâmico, etapa inicial e regulatória da lignificação, os resultados sugerem uma associação entre a presença de compostos relacionados à fenilalanina detectados em *B. amyloliquefaciens* e o incremento da lignificação observado nas raízes de soja. O aumento do teor de lignina pode estar associado ao reforço da parede celular, resultando em maior rigidez e resistência mecânica do tecido vegetal, características frequentemente relacionadas a respostas de defesa induzidas (Raes et al., 2003). Dessa forma, os dados obtidos indicam que o tratamento com *B. amyloliquefaciens* pode estar envolvido na ativação de mecanismos de defesa da planta, possivelmente pelo aumento da lignificação da parede celular. Nesse contexto, apesar da ausência de formação de biofilme nas raízes de soja, o controle biológico dos J2 pode estar associado à indução de resistência da planta hospedeira, mediada por alterações estruturais e bioquímicas da parede celular, como o aumento da lignificação. Diferentemente da soja, as raízes de feijão apresentaram baixa intensidade na região associada à lignina, mas mostraram aumento nas bandas entre $1238\text{--}1522$

cm⁻¹, indicativas de maior conteúdo de celulose, sugerindo um fortalecimento estrutural da parede celular primária.

Compostos químicos identificados nos exsudatos, como os aminoácidos, peptídeos e outros metabólitos secundários podem desempenhar papel central na repelência ou atração dos J2 (Cavalcanti et al., 2024). Nossos estudos futuros deverão integrar análises químicas ou metabolômicas aos ensaios de quimiotaxia, permitindo correlacionar mudanças nos exsudatos com respostas comportamentais dos fitonematoides.

9 CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que *Bacillus amyloliquefaciens* e o bionemático Auba[®] estão associados ao controle de *Meloidogyne incognita* por múltiplos mecanismos, incluindo alterações nas respostas quimiotáticas dos J2, formação de biofilme em raízes de feijão e o reforço estrutural da parede celular, evidenciado pela lignificação em soja e pelo aumento do conteúdo de celulose em feijão.

REFERÊNCIAS

- AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Brasília: Ministério da Agricultura e Pecuária, 2025. Disponível em: <https://agrofit.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 20 jul. 2025.
- AHN, I.-P.; LEE, S.-W.; SUH, S.-C. Rhizobacteria-induced priming in *Arabidopsis* is dependent on ethylene, jasmonic acid, and NPR1. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, St. Paul, v. 20, n. 7, p. 759–768, 2007.
- AIOUB, A. A. A.; ELES AWY, A. E.; AMMAR, E. E. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their role in plant-parasitic nematodes control: a fresh look at an old issue. *Journal of Plant Diseases and Protection*, Heidelberg, v. 129, n. 6, p. 1305–1321, 2022.
- AZLAY, L. et al. Biological management of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.): a review. *Organic Agriculture*, Cham, v. 13, n. 1, p. 99–117, 2023.
- BACKER, R. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 9, p. 1473, 2018.
- BAERMANN, G. Eine einfache Methode zur Auffindung von *Ancylostomum* (Nematoden) Larven in Erdproben. *Geneeskundig Tijdschrift voor Nederlandsch-Indië*, Batavia, v. 57, p. 131–137, 1917.
- BAIS, H. P. et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, Palo Alto, v. 57, n. 1, p. 233–266, 2006.
- BARTLEM, D. G.; JONES, M. G. K.; HAMMES, U. Z. Vascularization and nutrient delivery at root-knot nematode feeding sites in host roots. *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v. 65, n. 7, p. 1789–1798, 2014.
- BEAUREGARD, P. B. et al. *Bacillus subtilis* biofilm induction by plant polysaccharides. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Washington, v. 110, n. 17, p. E1621–E1630, 2013.
- BENEDUZI, A.; AMBROSINI, A.; PASSAGLIA, L. M. P. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, v. 35, p. 1044–1051, 2012.
- BERIS, D. et al. *Bacillus amyloliquefaciens* strain MBI600 induces salicylic acid-dependent resistance in tomato plants against Tomato spotted wilt virus and Potato virus Y. *Scientific Reports*, London, v. 8, n. 1, p. 10320, 2018.
- BOERSMA, P. J. et al. Silver nanoparticles inhibit nitrogen fixation in soybean (*Glycine max*) root nodules. *Environmental Science and Pollution Research*, Heidelberg, v. 30, n. 11, p. 32014–32031, 2022.
- BOLLER, T.; FELIX, G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology*, Palo Alto, v. 60, p. 379–406, 2009.

BRANDA, S. S. et al. Biofilms: the matrix revisited. *Trends in Microbiology*, Cambridge, v. 13, n. 1, p. 20–26, 2005.

CAO, H. et al. Analysis of the activity and biological control efficacy of the *Bacillus subtilis* strain Bs-1 against *Meloidogyne incognita*. *Crop Protection*, v. 122, p. 125–135, 2019.

CARNEIRO, R. M. D. G.; ALMEIDA, M. R. A. Técnica de eletroforese utilizada no estudo de enzimas dos nematoides de galhas para identificação de espécies. *Nematologia Brasileira*, Piracicaba, v. 25, p. 555–560, 2001.

CARVALHO JÚNIOR, O. V. et al. Local *Bacillus* species as potential biocontrol agents for *Meloidogyne incognita* in melon (*Cucumis melo* L.). *Biocontrol Science and Technology*, Abingdon, v. 32, p. 314–328, 2022.

CAVALCANTI, V. P. et al. A commercial formulation of *Bacillus subtilis* induces metabolomic changes in root exudates that invert the chemotactic responses of the nematode *Meloidogyne incognita* to host and non-host plants. *Journal of Plant Diseases and Protection*, Heidelberg, v. 131, n. 3, p. 899–909, 2024.

CAWOY, H. et al. *Bacillus*-based biological control of plant diseases. London: IntechOpen, 2011.

CHAGAS, F. O. et al. Chemical signaling involved in plant–microbe interactions. *Chemical Society Reviews*, London, v. 47, n. 5, p. 1652–1704, 2018.

CHEN, W.-C.; JUANG, R.-S.; WEI, Y.-H. Applications of a lipopeptide biosurfactant, surfactin, produced by microorganisms. *Biochemical Engineering Journal*, Amsterdam, v. 103, p. 158–169, 2015. DOI: 10.1016/j.bej.2015.07.009.

CHENG, W. et al. Volatile organic compounds from *Paenibacillus polymyxa* KM2501-1 control *Meloidogyne incognita* by multiple strategies. *Scientific Reports*, London, v. 7, p. 16213, 2017. DOI: 10.1038/s41598-017-16631-8.

CHUNG, S. et al. Isolation and partial characterization of *Bacillus subtilis* ME488 for suppression of soilborne pathogens of cucumber and pepper. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Berlin, v. 80, p. 115–123, 2008.

COOLEN, W. A.; D'HERDE, C. J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent: State Agricultural Research Centre, 1972.

CRUZ-MAGALHÃES, V. et al. The combination of two *Bacillus* strains suppresses *Meloidogyne incognita* and fungal pathogens, but does not enhance plant growth. *Pest Management Science*, Oxford, v. 78, n. 2, p. 722–732, 2022.

DÍAZ-MANZANO, F. E. et al. Biocontrol of *Meloidogyne* spp. in *Solanum lycopersicum* using a dual combination of *Bacillus* strains. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 13, p. 1077062, 2023.

DIYAPOGLU, A.; ONER, M.; MENG, M. Application potential of bacterial volatile organic compounds in the control of root-knot nematodes. *Molecules*, Basel, v. 27, n. 14, p. 4355, 2022.

DUTTA, T. et al. Effect of small lipophilic molecules in tomato and rice root exudates on the behaviour of *Meloidogyne incognita* and *M. graminicola*. *Nematology*, Leiden, v. 14, p. 309–320, 2012.

ELLING, A. A. Major emerging problems with minor *Meloidogyne* species. *Phytopathology*, St. Paul, v. 103, n. 11, p. 1092–1102, 2013. DOI: 10.1094/PHYTO-01-13-0019-RVW.

EL-NAGDI, W. M. A.; ABD-EL-KHAIR, H. Application of *Bacillus* species for controlling root-knot nematode *Meloidogyne incognita* in eggplant. *Bulletin of the National Research Centre*, Cairo, v. 43, p. 154, 2019. DOI: 10.1186/s42269-019-0187-6.

EMBRAPA. Mapa encerra 2023 com 90 produtos de baixo impacto registrados. Brasília, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-encerra-2023-com-90-produtos-de-baixo-impacto-registrados>. Acesso em: 21 jun. 2025.

EMBRAPA. Bioinsumos será o foco da participação da Embrapa na Bio Brazil Fair 2024. Brasília, 2024. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/89989409>. Acesso em: 8 jun. 2025.

FENG, H. et al. Chemotaxis of beneficial rhizobacteria to root exudates: the first step towards root–microbe rhizosphere interactions. *International Journal of Molecular Sciences*, Basel, v. 22, p. 6655, 2021. DOI: 10.3390/ijms22136655.

FERRAZ, L. C. C. B.; BROWN, D. J. F. *Nematologia de plantas: fundamentos e importância*. Manaus: Norma Editora, 2016. 251 p.

FIRA, D. et al. Biological control of plant pathogens by *Bacillus* species. *Journal of Biotechnology*, Amsterdam, v. 285, p. 44–55, 2018. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2018.07.044.

FU, Z. Q.; DONG, X. Systemic acquired resistance: turning local infection into global defense. *Annual Review of Plant Biology*, Palo Alto, v. 64, p. 839–863, 2013.

GAO, H. et al. *Bacillus cereus* strain S2 shows high nematocidal activity against *Meloidogyne incognita* by producing sphingosine. *Scientific Reports*, London, v. 6, p. 28756, 2016. DOI: 10.1038/srep28756.

GATTONI, K. M.; PARK, S. W.; LAWRENCE, K. S. Evaluation of the mechanism of action of *Bacillus* spp. to manage *Meloidogyne incognita* with split root assay, RT-qPCR and qPCR. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 13, p. 1079109, 2023. DOI: 10.3389/fpls.2022.1079109.

GOTO, D. B. et al. Not to be suppressed? Rethinking the host response at a root–parasite interface. *Plant Science*, Amsterdam, v. 213, p. 9–17, 2013. DOI: 10.1016/j.plantsci.2013.08.004.

GOVERSE, A.; SMANT, G. The activation and suppression of plant innate immunity by parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 52, p. 243–265, 2014.

GOWDA, M.; MEENA, B. Antimicrobial peptides producing native *Bacillus* spp. for the management of *Meloidogyne incognita* infecting okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench). *Biological Control*, Orlando, v. 171, p. 104951, 2022. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2022.104951.

HORAK, G.; ENGELBRECHT, P. J.; JANSSEN VAN RENSBURG, S.; CLAASSENS, S. Microbial metabolomics: essential definitions and the importance of cultivation conditions for utilizing *Bacillus* species as bionematicides. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, v. 127, n. 2, p. 326–343, 2019. DOI: 10.1111/jam.14218.

HU, H.; GAO, Y.; LI, X.; CHEN, S.; YAN, S.; TIAN, X. Identification and nematicidal characterization of proteases secreted by endophytic bacteria *Bacillus cereus* BCM2. *Phytopathology*, St. Paul, v. 110, n. 2, p. 336–344, 2020. DOI: 10.1094/PHYTO-05-19-0164-R.

HU, H. J.; CHEN, Y. L.; WANG, Y. F.; TANG, Y. Y.; CHEN, S. L.; YAN, S. Z. Endophytic *Bacillus cereus* effectively controls *Meloidogyne incognita* on tomato plants through rapid rhizosphere occupation and repellent action. *Plant Disease*, v. 101, n. 3, p. 448–455, 2017. DOI: 10.1094/PDIS-06-16-0871-RE.

HUSSEY, R. S.; BARKER, K. R. A comparison of methods of collecting inocula of *Meloidogyne* spp., including a new technique. *Plant Disease Reporter*, Washington, v. 57, n. 12, p. 1025–1028, 1973.

JAGDALE, S.; RAO, U.; GIRI, A. P. Effectors of root-knot nematodes: an arsenal for successful parasitism. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 12, e800030, 2021. DOI: 10.3389/fpls.2021.800030.

JONES, J. T.; HAEGEMAN, A.; DANCHIN, E. G. J.; et al. Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, Oxford, v. 14, n. 9, p. 946–961, 2013. DOI: 10.1111/mpp.12057.

KAVITHA, P. O.; JONATHON, E. I.; SEVUGAPPERUMAL, N. Effects of crude antibiotic of *Bacillus* on hatching of eggs and mortality of juveniles of *Meloidogyne incognita*. *Nematologia Mediterranea*, Bari, v. 40, p. 203–206, 2012.

LEE, Y. S.; KIM, K. Y. Antagonistic potential of *Bacillus pumilus* L1 against root-knot nematode, *Meloidogyne arenaria*. *Journal of Phytopathology*, v. 164, n. 1, p. 29–39, 2016. DOI: 10.1111/jph.12421.

LI, X.; HU, H. J.; LI, J. Y.; WANG, C.; CHEN, S. L.; YAN, S. Z. Effects of the endophytic bacteria *Bacillus cereus* BCM2 on tomato root exudates and *Meloidogyne incognita* infection. *Plant Disease*, v. 103, n. 7, p. 1551–1558, 2019. DOI: 10.1094/PDIS-11-18-2016-RE.

LI, Y.; GU, Y.; LI, J.; XU, M.; WEI, Q.; WANG, Y. Biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* LJ02 induces systemic resistance against cucurbits powdery mildew. *Frontiers in Microbiology*, Lausanne, v. 6, e883, 2015. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00883.

LIU, Y.; ZHANG, N.; QIU, M.; FENG, H.; VIVANCO, J. M.; SHEN, Q.; ZHANG, R. Enhanced rhizosphere colonization of beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by

pathogen infection. *FEMS Microbiology Letters*, Oxford, v. 353, n. 1, p. 49–56, 2014. DOI: 10.1111/1574-6968.12406.

MACHADO, A. C. Z. Bionematicides in Brazil: an emerging and challenging market. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 28, p. 35–49, 2022.

MAQUELIN, K.; et al. Identification of medically relevant microorganisms by vibrational spectroscopy. *Journal of Microbiological Methods*, Amsterdam, v. 51, n. 3, p. 255–271, 2002.

MELO, T. A.; et al. O gênero *Bacillus* aplicado ao controle biológico de doenças de plantas. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 9, e18110917817, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i9.17817.

MESSA, V.; NUNES, J.; MATTEI, D. Seed treatment with *Bacillus amyloliquefaciens* for the control of *Meloidogyne javanica* “in vivo” in bean culture and its direct effect on motility, mortality and hatching “in vitro”. *Agronomy Science and Biotechnology*, v. 5, n. 2, p. 59, 2019.

MHATRE, P. H.; et al. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a potential alternative tool for nematodes biocontrol. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 17, p. 119–128, 2019. DOI: 10.1016/j.bcab.2018.11.009.

MIGUNOVA, V. D.; SASANELLI, N. Bacteria as biocontrol tool against phytoparasitic nematodes. *Plants*, v. 10, n. 2, p. 389, 2021. DOI: 10.3390/plants10020389.

MOREIRA, A. C. S.; et al. *Bacillus amyloliquefaciens* strain BaNCT02: an antagonist with multiple mechanisms of action against *Meloidogyne incognita*. *Plant Pathology*, v. 74, n. 2, p. 320–329, 2025.

MORRIS, C. E.; MONIER, J.-M. The ecological significance of biofilm formation by plant-associated bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, v. 41, n. 1, p. 429–453, 2003.

NADEEM, H.; NIAZI, P.; ASIF, M.; KASKAVALCI, G.; AHMAD, F. Bacterial strains integrated with surfactin molecules of *Bacillus subtilis* MTCC441 enrich nematocidal activity against *Meloidogyne incognita*. *Plant Biology*, Stuttgart, v. 23, n. 6, p. 1027–1036, 2021. DOI: 10.1111/plb.13301.

NEPHALI, L.; et al. Mass spectral molecular networking to profile the metabolome of biostimulant *Bacillus* strains. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 13, e920963, 2022.

PACHECO, P. V. M.; et al. Attraction and toxicity: ways volatile organic compounds released by *Pochonia chlamydosporia* affect *Meloidogyne incognita*. *Microbiological Research*, v. 255, p. 126925, 2022.

PAGE, A. P.; STEPEK, G.; WINTER, A. D.; PERTAB, D. Enzymology of the nematode cuticle: a potential drug target? *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, Amsterdam, v. 4, n. 2, p. 133–141, 2014. DOI: 10.1016/j.ijpddr.2014.05.003.

POVEDA, J.; ABRIL-URIAS, P.; ESCOBAR, C. Biological control of plant-parasitic nematodes by filamentous fungi inducers of resistance: *Trichoderma*, mycorrhizal and endophytic fungi. *Frontiers in Microbiology*, Lausanne, v. 11, e992, 2020. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00992.

RADWAN, M. A.; FARRAG, S. A. A.; ABU-ELAMAYEM, M. M.; AHMED, N. S. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* on tomato using bioproducts of microbial origin. *Applied Soil Ecology*, Amsterdam, v. 56, p. 58–62, 2012. DOI: 10.1016/j.apsoil.2012.02.008.

RAES, J.; ROHDE, A.; CHRISTENSEN, J. H.; VAN DE PEER, Y.; BOERJAN, W. Genome-wide characterization of the lignification toolbox in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, v. 133, n. 3, p. 1051–1071, 2003.

RASMANN, S.; ALI, J. G.; HELDER, J.; VAN DER PUTTEN, W. H. Ecology and evolution of soil nematode chemotaxis. *Journal of Chemical Ecology*, New York, v. 38, n. 6, p. 615–628, 2012. DOI: 10.1007/s10886-012-0118-6.

REYNOLDS, A. M.; DUTTA, T. K.; CURTIS, R. H. C.; POWERS, S. J.; GAUR, H. S.; KERRY, B. R. Chemotaxis can take plant-parasitic nematodes to the source of a chemo-attractant via the shortest possible routes. *Journal of the Royal Society Interface*, London, v. 8, n. 57, p. 568–577, 2011. DOI: 10.1098/rsif.2010.0417.

SANTOS, C. A. Produtos biológicos: sustentabilidade com eficiência. *Revista Campo & Negócios Grãos*, Uberlândia, v. 253, p. 25–27, abr. 2024.

SASANELLI, N.; KONRAT, A.; MIGUNOVA, V.; TODERAS, I.; IURCU-STRAISTARU, E.; RUSU, S.; BIVOL, A.; ANDONI, C.; VERONICO, P. Review on control methods against plant parasitic nematodes applied in southern member states (C zone) of the European Union. *Agriculture*, Basel, v. 11, n. 7, p. 602, 2021. DOI: 10.3390/agriculture11070602.

SAUCET, S. B.; VAN GHELDER, C.; ABAD, P.; DUVAL, H.; ESMENJAUD, D. Resistance to root-knot nematodes *Meloidogyne* spp. in woody plants. *New Phytologist*, Oxford, v. 211, n. 1, p. 41–56, 2016. DOI: 10.1111/nph.13933.

SAXENA, A. K.; KUMAR, M.; CHAKDAR, H.; ANUROOPA, N.; BAGYARAJ, D. J. *Bacillus* species in soil as a natural resource for plant health and nutrition. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, v. 128, n. 6, p. 1583–1594, 2020. DOI: 10.1111/jam.14506.

SIDDIQUE, S.; GRUNDLER, F. M. W. Parasitic nematodes manipulate plant development to establish feeding sites. *Current Opinion in Microbiology*, London, v. 46, p. 102–108, 2018. DOI: 10.1016/j.mib.2018.09.004.

SIKDER, M. M.; VESTERGÅRD, M. Impacts of root metabolites on soil nematodes. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 10, 1792, 2020. DOI: 10.3389/fpls.2019.01792.

SIKORA, R. A.; SCHÄFER, K.; DABABAT, A. A. Modes of action associated with microbially induced *in planta* suppression of plant-parasitic nematodes. *Australasian Plant Pathology*, Dordrecht, v. 36, p. 124–134, 2007. DOI: 10.1071/AP07008.

SIKORA, R.; COYNE, D.; HALLMANN, J.; TIMPER, P. Reflections and challenges: nematology in subtropical and tropical agriculture. In: *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. 3. ed. Wallingford: CABI, 2018. p. 1–18.

STENBERG, J. A.; SUNDH, I.; BECHER, P. G.; et al. When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. *Journal of Pest Science*, Heidelberg, v. 94, p. 665–676, 2021. DOI: 10.1007/s10340-021-01354-7.

TAPIA-VÁZQUEZ, I.; MONTOYA-MARTÍNEZ, A. C.; DE LOS SANTOS-VILLALOBOS, S.; EK-RAMOS, M. J.; MONTESINOS-MATÍAS, R.; MARTÍNEZ-ANAYA, C. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) a threat to agriculture in Mexico: biology, current control strategies, and perspectives. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, Dordrecht, v. 38, n. 2, p. 26, 2022. DOI: 10.1007/s11274-021-03211-2.

TERRA, W. C.; et al. Chemotaxis in root-knot nematodes. In: *Root-galling disease of vegetable plants*. Singapore: Springer Nature Singapore, 2023. p. 85–115. DOI: 10.1007/978-981-99-3892-6_3.

TSAI, A. Y.; OOTA, M.; SAWA, S. Chemotactic host-finding strategies of plant endoparasites and endophytes. *Frontiers in Plant Science*, Lausanne, v. 11, e1167, 2020. DOI: 10.3389/fpls.2020.01167.

VASANTHA-SRINIVASAN, P.; PARK, K. B.; KIM, K. Y.; JUNG, W.-J.; HAN, Y. S. The role of *Bacillus* species in the management of plant-parasitic nematodes. *Frontiers in Microbiology*, Lausanne, v. 15, e1510036, 2025. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1510036.

VISHWAKARMA, S.; ILYAS, T.; SHAHID, M.; MALVIYA, D.; KUMAR, S.; SINGH, S.; JOHRI, P.; SINGH, U.; SINGH, H. *Bacillus* spp.: nature's gift to agriculture and humankind. Singapore: Springer Nature, 2024. DOI: 10.1007/978-981-99-8195-3_1.

WANG, P.; SUN, Y.; YANG, L.; HU, Y.; LI, J.; WANG, J.; ZHANG, F.; LIU, Y. Chemotactic responses of the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* to *Streptomyces plicatus*. *FEMS Microbiology Letters*, Oxford, v. 366, n. 19, efnz234, 2019. DOI: 10.1093/femsle/fnz234.

XIANG, N.; LAWRENCE, K. S.; DONALD, P. A. Biological control potential of plant growth-promoting rhizobacteria suppression of *Meloidogyne incognita* on cotton and *Heterodera glycines* on soybean: a review. *Journal of Phytopathology*, Berlin, v. 166, p. 449–458, 2018. DOI: 10.1111/jph.12712.

XIAO, T. J.; TAN, S. Y.; SHEN, Q. R.; RAN, W. *Bacillus cereus* X5 suppresses root-knot nematode of tomato by colonizing in roots and soil. *African Journal of Microbiology Research*, Nairobi, v. 6, n. 10, p. 2321–2327, 2012.

XU, Z.; ZHANG, R.; WANG, D.; QIU, M.; FENG, H.; ZHANG, N.; SHEN, Q. Enhanced control of cucumber wilt disease by *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 by altering the regulation of its DegU phosphorylation. *Applied and Environmental Microbiology*, Washington, v. 80, p. 2941–2950, 2014.

YARYURA, P. M.; LEÓN, M.; CORREA, O. S.; et al. Assessment of the role of chemotaxis and biofilm formation as requirements for colonization of roots and seeds of soybean plants

by *Bacillus amyloliquefaciens* BNM339. *Current Microbiology*, New York, v. 56, p. 625–632, 2008.

ZHAI, Y.; SHAO, Z.; CAI, M.; ZHENG, L.; LI, G.; HUANG, D.; CHENG, W.; THOMASHOW, L. S.; WELLER, D. M.; YU, Z.; ZHANG, J. Multiple modes of nematode control by volatiles of *Pseudomonas putida* 1A00316 from Antarctic soil against *Meloidogyne incognita*. *Frontiers in Microbiology*, Lausanne, v. 9, 253, 2018. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00253.

ZHAO, Y.; et al. Repulsive response of *Meloidogyne incognita* induced by biocontrol bacteria and its effect on interspecific interactions. *Frontiers in Microbiology*, Lausanne, v. 13, e994941, 2022.