

*Bacillus methylotrophicus* (LBCC0786) e *Streptomyces griseovirides*  
(LBCC0431) **no controle de *Pratylenchus brachyurus* e**  
*Macrophomina phaseolina* **na cultura da soja**

**Rejanne Davi Ribeiro**  
Eng. Agrônoma

**REJANNE DAVI RIBEIRO**

*Bacillus methylotrophicus* (LBCC0786) e *Streptomyces griseovirides* (LBCC0431)  
**no controle de *Pratylenchus brachyurus* e *Macrophomina phaseolina* na cultura da  
soja**

Orientador: Prof. Dr. Fernando Godinho de Araújo

Dissertação apresentada ao Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas para obtenção do título de MESTRE.

Urutaí – GO  
2022

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP  
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
**Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano**

R484b      Ribeiro, Rejanne  
            Bacillus methylotrophicus (LBCC0786) e  
            Streptomyces griseovirides (LBCC0431) no controle de  
            Pratylenchus brachyurus e Macrophomina phaseolina na  
            cultura da soja / Rejanne Ribeiro; orientador  
            Fernando Godinho de Araújo; co-orientador Nadson de  
            Carvalho Pontes. -- Urutaí, 2022.  
            43 p.

            Dissertação (Mestrado em Programa de Pós Graduação  
            em Proteção de Plantas) -- Instituto Federal Goiano,  
            Campus Urutaí, 2022.

            1. Controle biológico. 2. Nematóide das lesões  
            radiculares. 3. Podridão cinzenta da raiz. I.  
            Godinho de Araújo, Fernando, orient. II. de Carvalho  
            Pontes, Nadson, co-orient. III. Título.

Responsável: Johnathan Pereira Alves Diniz - Bibliotecário-Documentalista CRB-1 nº2376

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO**

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

**Identificação da Produção Técnico-Científica**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Tese  | <input type="checkbox"/> Artigo Científico              |
| <input checked="" type="checkbox"/> Dissertação                      | <input type="checkbox"/> Capítulo de Livro              |
| <input type="checkbox"/> Monografia - Especialização                 | <input type="checkbox"/> Livro                          |
| <input type="checkbox"/> TCC - Graduação                             | <input type="checkbox"/> Trabalho Apresentado em Evento |
| <input type="checkbox"/> Produto Técnico e Educacional - Tipo: _____ |   |

Nome Completo do Autor: Rejanne Davi Ribeiro

Matrícula: 2020101330540199

Título do Trabalho: *Bacillus methylotrophicus* (LBCC0786) e *Streptomyces griseovirides* (LBCC0431) no controle de *Pratylenchus brachyurus* e *Macrophomina phaseolina* na cultura da soja

**Restrições de Acesso ao Documento**

Documento confidencial:  Não  Sim, justifique: \_\_\_\_\_

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 20/07/2022

O documento está sujeito a registro de patente?  Sim  Não

O documento pode vir a ser publicado como livro?  Sim  Não

**DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA**

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Patos de Minas, 08/07/2022.

*Rejanne Davi Ribeiro*

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

*[Assinatura]*

Assinatura do(a) orientador(a)



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA INSTITUTO  
FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO

## FOLHA DE APROVAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Título da dissertação: *Bacillus methylotrophicus* (LBCC0786) e *Streptomyces griseovirides* (LFCC0431) no controle de *Pratylenchus brachyurus* e *Macrophomina phaseolina* na cultura da soja

**Autoria:** Rejanne Davi Ribeiro

**Orientador:** Prof. Dr. Fernando Godinho de Araújo

**Dissertação de Mestrado APROVADA em 11 de março de 2022, como parte das exigências para obtenção do Título MESTRA EM PROTEÇÃO DE PLANTAS, pela Banca Examinadora especificada a seguir:**

Prof. Dr. Fernando Godinho de Araújo

IF Goiano Campus Urutaí

Prof. Dr Rodrigo Vieira da  
Silva

IF Goiano Campus Morrinhos

Profª. Drª Cláudia Regina Dias  
Arieira

Universidade Estadual de Goiás  
Campus Morrinhos

Documento assinado eletronicamente por:

- **Claudia Regina Dias Arieira, Claudia Regina Dias Arieira - Membro externo - Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí (10651417000259)**, em 11/03/2022 09:58:12.
- **Rodrigo Vieira da Silva, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 11/03/2022 09:55:35.
- **Fernando Godinho de Araujo, PROFESSOR ENS BASICO TECN TECNOLOGICO**, em 11/03/2022 09:51:57.

Este documento foi emitido pelo SUAP em 10/03/2022. Para comprovar sua autenticidade, faça a leitura do QRCode ao lado ou acesse <https://suap.ifgoiano.edu.br/autenticar-documento/> e forneça os dados abaixo:

Código Verificador: 365566

Código de Autenticação: 0097cf3f63



INSTITUTO FEDERAL GOIANO  
Campus Urutaí  
Rodovia Geraldo Silva Nascimento, Km 2,5, Zona Rural, None, URUTAI / GO, CEP 75790-000  
(64) 3465-1900

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela sua infinita bondade em me conceder a oportunidade de percorrer esta trajetória e realizar este importante projeto em minha vida.

Gratidão a minha família e amigos que me encorajaram durante esta caminhada em forma de compreensão e amor.

Agradeço a Lallemand Plant Care e a equipe da qual faço parte pelo suporte na realização deste trabalho.

Agradeço ao meu orientador pelos ensinamentos e acolhimento, assim como os membros do LABMIN pelo auxílio e disponibilidade.

Existem inúmeras maneiras de se contribuir para a realização de um trabalho e sou muito grata a todos que de alguma forma doaram um pouco do seu tempo para me auxiliar nesse projeto.

OBRIGADA, OBRIGADA, OBRIGADA!

**SUMÁRIO**

RESUMO .....	9
ABSTRACT .....	10
INTRODUÇÃO.....	11
OBJETIVOS.....	14
MATERIAL E MÉTODOS .....	15
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	20
CONCLUSÕES .....	34
REFERÊNCIAS .....	35



## RESUMO

A soja (*Glycine max*) apresenta um papel de destaque na economia mundial com fundamental importância na alimentação humana e animal. O nematoide-das-lesões radiculares, *Pratylenchus brachyurus* tem provocado expressivas perdas econômicas a soja, principalmente na região Centro-Oeste do país com perdas de produtividade até 50% da cultura. A podridão cinzenta da raiz ou podridão de carvão, provocada pelo fungo *Macrophomina phaseolina* é uma doença radicular de ocorrência generalizada em todas as regiões de cultivo, interferindo negativamente na produtividade da soja. Para conviver com esse complexo de doenças o controle biológico vem se destacando pela utilização de microrganismos antagonistas com o intuito de diminuir as perdas econômicas. Esse trabalho teve como objetivo verificar a interação e eficácia de *Bacillus methylophilus* (Onix®) e *Streptomyces griseovirides* (Lalstop K61) no manejo de *P. brachyurus* em associação com *M. phaseolina* na cultura da soja. Experimentos em laboratório foram realizados para verificar a compatibilidade entre *S. griseovirides* e *B. methylophilus*. Os microrganismos foram submetidos a exposição simultânea em placas de Petri e não se observou a inibição de crescimento entre eles. Experimento em casa de vegetação foi instalado para verificar o desenvolvimento de plantas de soja utilizando os microrganismos separados e em combinação, o qual demonstrou não haver interferência negativa com o uso associado dos produtos. Em adição aos demais, ensaios em casa de vegetação foram realizados para verificar a eficácia dos produtos no manejo de *P. brachyurus* e *M. phaseolina* de forma isolada e em associação. A severidade da doença em associação com o nematoide, foi menor quando utilizou-se os agentes de biocontrole em conjunto comparados ao controle. O tratamento com *S. griseovirides* apresentou maior massa da matéria fresca de parte aérea quando inoculados os dois patógenos. O uso de *S. griseovirides* e *B. methylophilus* em associação, promoveu o aumento da altura de plantas mesmo na presença dos dois patógenos. A utilização dos agentes de biocontrole promoveram a redução da população de *P. brachyurus*,

**Palavras-chave:** Nematoide-das-lesões radiculares; Podridão cinzenta da raiz; Controle biológico.

## ABSTRACT

Soybean (*Glycine max*) has a prominent role in the world economy with fundamental importance in human and animal nutrition. The root lesion nematode, *Pratylenchus brachyurus*, has caused significant economic losses to soybeans, mainly in the Midwest region of the country, with productivity losses of up to 50% of the crop. Gray root rot or charcoal rot, caused by the fungus *Macrophomina phaseolina*, is a root disease that is widespread in all growing regions, negatively interfering with soybean productivity. To live with this complex of diseases, biological control has been highlighted by the use of antagonistic microorganisms in order to reduce economic losses. This work aimed to verify the interaction and efficacy of *Bacillus methylophilus* (Onix®) and *Streptomyces griseovirides* (Lalstop K61) in the management of *P. brachyurus* in association with *M. phaseolina* in soybean. Laboratory experiments were carried out to verify the compatibility between *S. griseovirides* and *B. methylophilus*. The microorganisms were submitted to simultaneous exposure in Petri dishes and no growth inhibition was observed between them. A greenhouse experiment was installed to verify the development of soybean plants using the microorganisms separately and in combination, which showed no negative interference with the associated use of the products. In addition to the others, tests were carried out in a greenhouse to verify the effectiveness of the products in the management of *P. brachyurus* and *M. phaseolina* in isolation and in association. The severity of the disease in association with the nematode was lower when the biocontrol agents were used together compared to the control. The treatment with *S. griseovirides* showed higher fresh mass of shoots when both pathogens were inoculated. The use of *S. griseovirides* and *B. methylophilus* in association promoted an increase in plant height even in the presence of both pathogens. The use of biocontrol agents promoted the reduction of the population of *P. brachyurus*,

**Key words:** Root-lesion nematode; Charcoal rot; Biological control.

## INTRODUÇÃO

A soja (*Glycine max*) apresenta um papel de destaque na economia, com fundamental importância na alimentação humana e animal. De acordo com o terceiro levantamento da safra 2021/22 da Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB), a soja apresentou um incremento de 3,7% em área plantada em comparação à safra anterior, além disso, a produção foi estimada em 142.789,9 mil toneladas, caracterizando o Brasil como maior produtor mundial da oleaginosa (CONAB, 2021). Na busca por elevados índices de produtividade, pragas e doenças se manifestam como um fator restritivo para a produção do grão.

Conhecido como nematoide-das-lesões radiculares, *Pratylenchus brachyurus* (Godfrey 1929) Filipjev and Schuurmans Steekhoven 1941, tem provocado expressivos prejuízos econômicos na soja, principalmente na região Centro-Oeste do país com perdas de produtividade de até 50% da cultura (FRANCHINI et al., 2014). Fatores como a expansão da área plantada em solos arenosos, juntamente com a utilização de espécies hospedeiras como o milho e algodão na entressafra propiciam o aumento significativo deste nematoide nas áreas de cultivo de soja (DIAS et al., 2010; FORETO et al., 2019).

*P. brachyurus* é considerado um nematoide polífago e endoparasita migrador; no qual os danos podem ser mecânicos, devido a ação do estilete no sistema radicular e movimentação no interior das raízes; tóxicos, em virtude da injeção de secreções esofagianas nos tecidos e pela ação espoliativa (GOULART, 2008; FERRAZ, BROWN., 2016; TEJO, DOS SANTOS FERNANDES, BURATTO., 2020). Assim, o nematoide tem a capacidade de destruir os tecidos da planta, interferindo na absorção de água e nutrientes, além de facilitar a infecção de bactérias e fungos de solo (GONZAGA, 2006).

A podridão cinzenta da raiz ou podridão de carvão, também é uma doença radicular de ocorrência generalizada em todas as regiões de cultivo da soja no Brasil (ALMEIDA et al., 2014). O agente causal desta doença é o fungo *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid (1947) capaz de infectar raízes, caules, folhas e vagens de distintas espécies de plantas, afetando mais de 500 culturas de importância econômica (SINCLAIR et al., 1989; ALMEIDA et al., 2001; ISHIKAWA et al., 2018).

O fungo se caracteriza por produzir estruturas de resistências (microescleródios) formadas pela compactação de hifas, que se formam em abundância nos tecidos radiculares infectados, conferindo aspecto cinzento ou encarvoado às raízes. Os microescleródios permitem a sobrevivência do fungo no solo pelo período de 15 anos e

constituem a principal fonte de inóculo primário da doença (BOARETTO et al., 2012; ALMEIDA et al., 2014). A infecção de *M. phaseolina* é verificada na fase de plântula, o fungo tem período de incubação de 7 dias. Entretanto os sintomas são manifestados no estágio reprodutivo, As plantas que apresentam o fungo no primeiro trifólio, possuem menor desenvolvimento e redução de vigor quando comparadas as plantas saudáveis. A doença tem como consequência a maturação precoce e desuniforme, interferindo no enchimento dos grãos, reduzindo a produtividade (VINHOLES, 2014).

A infecção de fungos pode ser favorecida pela presença de nematoides que aumentam a suscetibilidade da planta e severidade dos danos devido aos processos de parasitismo do patógeno. (AMORIM et al., 2011). Normalmente, as interações entre doenças ocorrem quando os patógenos estão presentes no mesmo órgão da planta. Além disso, essas interações podem interferir diretamente no processo produtivo das plantas (SIMKIN; WHEELER, 1974; CORREIA, MICHEREFF., 2018).

Segundo Goulart (2008) o manejo de *P. brachyurus* é considerado complexo, devido ampla gama de hospedeiros, indisponibilidade de cultivares resistentes e da inconsistência dos resultados alcançados com o uso de nematicidas químicos. Assim como *Macrophomina phaseolina*, *P. brachyurus* é uma doença de difícil manejo em virtude da polifagia, ausência de alternativas de controle. Por esse fato, justifica-se a utilização de métodos alternativos de controle para essa doença (ALMEIDA et al., 2014).

Diversos são os métodos de controle que podem ser empregados no manejo de patógenos de solo. Visando uma agricultura sustentável, o uso de moléculas químicas vem se tornando inviável devido ao elevado custo e toxidez. Por conseguinte, espera-se o desenvolvimento de novas tecnologias e entre elas está o controle biológico (DE OLIVEIRA et al., 2021; DE ANDRADE et al., 2021)

Para *M. phaseolina*, a cobertura do solo associada ao manejo físico e químico é utilizado em abundância, entretanto, a ação necrotrófica do fungo dificulta essa prática, resultando em baixa eficiência. Devido à baixa eficiência e custos elevados, o controle químico praticamente não é utilizado. Desta forma, se torna relevante a adoção do controle biológico ao manejo da doença (SANTOS et al., 2010).

Para o controle de fitonematoides, várias estratégias são utilizadas para compor o manejo integrado. Entre elas, também estão práticas culturais, uso de genótipos resistentes e controle químico. Entretanto, devido ao hábito polífago de *P. brachyurus*, há maiores dificuldade no uso e o baixo acesso a genótipos resistentes e adoção de rotação de culturas com rentabilidade para o manejo (INOMOTO et al. 2006).

O uso de bionematicidas é uma estratégia de manejo com menor custo, comparado aos nematicidas químicos, sendo mais acessível aos produtores (VIEIRA et al, 2017).

Fungos e bactérias com ação direta sobre *P. brachyurus* foram escolhidos porque esses agentes têm maior potencial para usos agrícolas e têm diferentes modos de ação para o nematoide controle (SANTIAGO, 2015).

Este microrganismo penetra em ovos de nematóides, destrói o embrião e reduz a capacidade reprodutiva de sedentários fêmeas, que são posteriormente mortas (SANTIAGO et al., 2006), e tem efeito tóxico em nematóides adultos (DEVRAJAN; SEENIVASAN, 2002).

De acordo Coelho, Martins, Miranda (2021) com *Bacillus* na 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. O funcionamento dos agentes biológicos tem como característica a limitação ou estabilização dos nematoides, esta ocorre por meio da competição, bem como parasitismo e produção de compostos tóxicos (SANTOS et al., 2019)

De acordo com estudos Fernandes et al., (2014) observaram uma redução de aproximadamente 60% no número de ovos de *M. incognita* utilizando como controle a microbiolização de sementes com *B. subtilis*.

O uso de microrganismos no tratamento de sementes, está relacionado ao desenvolvimento das plantas com efeitos benéficos na germinação das sementes, desenvolvimento de plântulas e produção de grãos (HARMAN 2000). Os trabalhos de Junges (2012) também indica ganhos secundários como melhorias na qualidade estrutural e auxílio na disponibilização de nutrientes.

Neste sentido, o controle biológico vem se destacando devido a utilização de microrganismos antagônicos com o intuito de diminuir as perdas econômicas causadas pelos patógenos (COLLANGE et al., 2011).

## OBJETIVOS

O presente trabalho teve como objetivo verificar a interação e eficácia de *Bacillus methylotrophicus* (LBCC0786) e *Streptomyces griseovirides* (LBCC0431) no manejo de *Pratylenchus brachyurus* em associação com *Macrophomina phaseolina* na cultura da soja.

## MATERIAL E MÉTODOS

Ensaio em laboratório para verificar a compatibilidade de *Bacillus methylotrophicus* (cepa LBCC0786) e *Streptomyces griseovirides* (cepa LBCC0431)

O experimento de compatibilidade entre os agentes de biocontrole foi instalado em laboratório na Lallemand Plant Care em Patos de Minas - MG. As colônias de cada microrganismo (*Bacillus methylotrophicus* LBCC0786 e *Streptomyces griseovirides* LBCC0431) foram isoladas dos produtos comerciais (Onix® e K61) através do processo de estrias feitas com alça de inoculação (alça de Drigalski). A partir das colônias isoladas dos produtos, foram obtidas culturas puras de cada microrganismo.

Para estudar o efeito da compatibilidade entre os dois microrganismos, foi utilizada a técnica de cultivo pareado em placa de Petri descrito por Denis e Webster (1971) utilizando o meio Agar-Triptona de Soja (TSA) após três dias da obtenção das culturas puras. Para isso, discos de meio de cultura contendo cada microrganismo foram transferidos, com o auxílio de uma pinça, para placas de Petri contendo meio TSA e TSA bipartido, seguido de incubação em câmara BOD (Biological Oxygen Demand) a 30°C. Todos os procedimentos foram realizados em condições assépticas, em câmara de fluxo laminar.

O potencial de inibição dos isolados foi avaliado aos 4 dias após o semeio nas placas. A avaliação do crescimento foi feita por meio da determinação do diâmetro de crescimento. O experimento foi montado em delineamento inteiramente casualizado com seis repetições, considerando-se cada placa uma unidade experimental. Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade, homogeneidade e independência de resíduos. O modelo que mais se ajustou foi o modelo linear (Análise de variância). Em seguida, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Minitab e o nível de significância foi estabelecido em  $\alpha = 0,05$ .

Ensaio em casa de vegetação para verificar a compatibilidade de *Bacillus methylotrophicus* (cepa LBCC0786) e *Streptomyces griseovirides* (cepa LBCC0431) no desenvolvimento da soja.

Para avaliar a compatibilidade das bactérias com a cultura da soja foi instalado e conduzido ensaio em casa de vegetação na Lallemand Plant Care em Patos de Minas-MG. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) com quatro tratamentos e dez repetições. Foi utilizada uma mistura de solo e areia (1:1) para a

condução do ensaio em vasos contendo 5L de capacidade. Para cada tratamento, foram utilizadas 500 gramas de sementes da variedade Desafio. As suspensões foram preparadas de acordo com as concentrações do produto conforme descrito na Tabela 1. Com auxílio de uma pipeta, a calda foi distribuída sobre as sementes em um béquer grande. Para a melhor homogeneização dos produtos, movimentos circulares foram realizados durante um minuto. O substrato de cada vaso foi perfurado com o auxílio de um bastão de vidro em dois centímetros de profundidade e uma semente por vaso.

**Tabela1.** Descrição dos tratamentos utilizados para avaliar a compatibilidade de Onix® (*Bacillus methylotrophicus*) e K61 (*Streptomyces griseovirides*) no desenvolvimento de plantas de soja em casa de vegetação.

Tratamento	Descrição	Dose (ml ou g/kg)	Concentração do produto (UFC/mL ou g)
T1	Controle	-	-
T2	Onix	3 mL	$1 \times 10^9$
T3	K61	0.06 g	$1 \times 10^{11}$
T4	Onix + K61	3mL + 0.06 g	$1 \times 10^9 + 1 \times 10^{11}$

UFC: Unidade formadora de colônia

Todos os tratamentos utilizaram Bioprotetor:  $1 \text{ mL} \cdot \text{Kg}^{-1}$  de sementes

Aos 25 dias após a semeadura (V5 no desenvolvimento fenológico vegetal), a avaliação visual de plantas foi realizada de forma em que todos os tratamentos foram colocados em um aquário com água de torneira para melhor visualização do sistema radicular e parte aérea das plantas, além disso, os tratamentos foram comparados entre si. Após a lavagem das raízes, o volume radicular de cada planta foi obtido pelo deslocamento de volume de água em proveta graduada, segundo Rossiello et al. (1995) a massa da matéria fresca do sistema radicular e da parte aérea foram submetidos a medição separadamente em balança analítica com precisão de duas casas decimais. Posterior a medição da massa fresca, sistema radicular e parte aérea foram transferidos para sacos de papel e acondicionados na estufa de circulação forçada durante 72 horas a  $65^\circ\text{C}$  para avaliação da massa seca.

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade, homogeneidade e independência de resíduos. Caso os princípios não fossem alcançados, era realizada a análise de desvio. Para cada variável analisada foi ajustado o modelo que melhor se adequava aos dados considerando o critério de Informação De Akaike (AIC). Em seguida, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R e o nível de significância foi estabelecido em  $\alpha = 0,05$ .



Ensaio em casa de vegetação para verificar a eficácia de *B. methylotrophicus* cepa LBCC0786 e *S. griseovirides* cepa LBCC0431 no controle de *M. phaseolina* e *P. brachyurus*

Para avaliação da eficácia dos agentes de biocontrole foram implantados dois ensaios no Instituto Federal Goiano – Campus Urutaí, em condições de casa de vegetação, em delineamento experimental inteiramente casualizado, com 10 repetições. O solo foi autoclavado (120° C por 20 min) previamente para a condução do ensaio que se procedeu em vasos de 900 mL de capacidade. A cultivar de soja Desafio, foi utilizada devido a suscetibilidade ao *Pratylenchus brachyurus* e *Macrophomina phaseolina*.

O tratamento de sementes foi realizado no Laboratório de Manejo Integrado de Nematoides (LABMIN), antes da semeadura utilizando 500g de semente por tratamento. O solo foi inoculado com o fungo *M. phaseolina* no dia da semeadura, e o nematoide *Pratylenchus brachyurus*, inoculado sete dias após a emergência das plantas de acordo com os tratamentos descritos abaixo nas tabelas 2, 3 e 4.

**Tabela 2.** Descrição dos tratamentos e doses utilizadas para manejo de *Macrophomina phaseolina*

Tratamento	Descrição	Dose (ml ou g/kg)	Concentração do produto (UFC/mL ou g)
T1	<i>M. phaseolina</i>	-	-
T2	<i>M. phaseolina</i> + Onix	1 mL	1x10 <sup>9</sup>
T3	<i>M. phaseolina</i> + K61	0,06 g	1x10 <sup>11</sup>
T4	<i>M. phaseolina</i> + Onix + K61	1 mL + 0,06 g	1x10 <sup>9</sup> + 1x10 <sup>11</sup>

**Tabela 3.** Descrição dos tratamentos e doses utilizadas para manejo de *Pratylenchus brachyurus*

Tratamento	Descrição	Dose (ml ou g/kg)	Concentração do produto (UFC/mL ou g)
T1	<i>P. brachyurus</i>	-	-
T2	<i>P. brachyurus</i> + Onix	1 mL	1x10 <sup>9</sup>
T3	<i>P. brachyurus</i> + K61	0,06 g	1x10 <sup>11</sup>
T4	<i>P. brachyurus</i> + Onix + K61	1 mL + 0,06 g	1x10 <sup>9</sup> + 1x10 <sup>11</sup>

**Tabela 4.** Descrição dos tratamentos e doses utilizadas para manejo de *Macrophomina phaseolina* em associação com *Pratylenchus brachyurus*

Tratamento	Descrição	Dose (ml ou g/kg)	Concentração do produto (UFC/mL ou g)
T1	<i>M. phaseolina</i> + <i>P. brachyurus</i>	-	-
T2	<i>M. phaseolina</i> + <i>P. brachyurus</i> + Onix	1 mL	1x10 <sup>9</sup>
T3	<i>M. phaseolina</i> + <i>P. brachyurus</i> + K61	0,06 g	1x10 <sup>11</sup>
T4	<i>M. phaseolina</i> + <i>P. brachyurus</i> +	1 mL + 0,06g	1x10 <sup>9</sup> + 1x10 <sup>11</sup>

---

Todos os tratamentos utilizaram Bioprotetor: 1 mL Kg<sup>-1</sup> de sementes

---

O isolado de *M. phaseolina* foi obtido da coleção de fungos da EMBRAPA Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás – GO. O patógeno foi cultivado em placas de Petri com meio de cultura batata-dextrose-ágar (BDA) e mantido em câmara de incubação B.O.D. por um período de dez dias, a 28°C, sob fotoperíodo de 12 horas e umidade 70 % ± 10 para a multiplicação do fungo. Para a inoculação em substrato sólido, foram utilizados erlenmeyers contendo arroz sem casca, previamente umedecidos com água (100 mL de água/ 50 g de arroz) por 10 minutos. Posteriormente a água foi removida e o arroz esterilizado em autoclave por 20 minutos a 120 °C.

Após o resfriamento do arroz, foram adicionados 20 discos de micélio de 3 mm de culturas puras do patógeno e agitados diariamente para obter uma colonização mais rápida e uniforme. A inoculação foi realizada no mesmo dia da semeadura utilizando arroz colonizado (correspondendo a 1x10<sup>5</sup> microescleródios por planta) na camada superficial dos vasos e posterior incorporação (CRUCIOL, 2018).

Os nematoides foram obtidos de coleção pura mantida em casa de vegetação em plantas de tomateiro, foram extraídos do sistema radicular pela metodologia proposta por Coolen & D’Herde (1972). Este método consiste em submeter o sistema radicular sob água corrente, deixar secar em papel toalha e fragmentar as raízes em pedaços de 0,5 - 1 cm de tamanho. A massa radicular foi triturada com auxílio de liquidificador por aproximadamente 1 minuto juntamente com água.


A solução obtida foi transferida para um conjunto de peneiras 20 sobre 500 mesh. O material retido na peneira de 500 mesh foi coletado com auxílio de uma pisseta e foi adicionado 1,5mL de caulim à suspensão e misturado por completo. Foi submetido a centrifugação por 5 minutos. Após a primeira centrifugação, descartou-se o sobrenadante e adicionou uma solução de sacarose. Novamente, ocorreu uma centrifugação por 1 minuto. Após a segunda centrifugação, o sobrenadante foi transferido para a peneira de 500 mesh e a solução presente na peneira foi “lavada” com auxílio de uma pisseta para que não ocorra resíduos de sacarose.

A solução foi transferida para um tubo Falcon para leitura em microscópio óptico. Com auxílio de uma câmara de Peters realizou-se a leitura e quantificação dos nematoides presentes na amostra. A solução foi calibrada e cada vaso inoculado com 1mL da suspensão, contendo 1000 *P. brachyurus*.

Após 45 dias, a doença *M. phaseolina* foi avaliada por meio da severidade da doença utilizando a escala de notas segundo (SOARES; MEYER, 2019) (Figura 1). A massa da matéria fresca de raiz e parte aérea foram submetidas a pesagem separadamente em balança analítica com duas casas decimais. A altura de plantas foi mensurada utilizando uma régua graduada em centímetros, desde a base da planta até o topo da parte apical. O diâmetro de caule foi obtido com auxílio de um paquímetro graduado e a extração dos nematoides foi realizada pela metodologia de Coolen e D'Herde (1972) descrita anteriormente.

### Podridão de carvão da raiz – *Macrophomina phaseolina*

REAÇÃO	ESCALA DE AVALIAÇÃO
	0 Raízes volumosas, saudáveis, bem desenvolvidas
0-1,0: R	1 Raízes volumosas, levemente escuras, bem desenvolvidas
1,1-2,0:MR	2 Raízes com até 25% de escurecimento e redução de volume
2,1-3,0:MS	3 Raízes com até 50% de escurecimento e redução de volume
3,1-4,0:S	4 Raízes com até 75% de escurecimento e redução de volume
4,1-5,0:AS	5 Mais de 75% de escurecimento e redução de volume



**Figura 1.** Escala de Severidade da podridão de carvão da raiz causada pelo fungo *M. phaseolina* (SOARES; MEYER, 2019).

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade, homogeneidade e independência de resíduos. Quando esses princípios não foram alcançados, realizou-se a análise de desvio. Para cada variável analisada foi ajustado o modelo que melhor se adequava aos dados considerando o critério de Informação De Akaike (AIC). O AIC é um estimador de erro de previsão e, portanto, da qualidade relativa dos modelos estatísticos para um determinado conjunto de dados.

O AIC estima a quantidade relativa de informações perdidas por um determinado modelo: quanto menos informações um modelo perde, maior a qualidade desse modelo. Em seguida, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey. A análise de desvio é um análogo próximo à análise de variância (ANOVA), que usa o desvio residual para avaliar a significância do modelo.

O desvio residual também é análogo à soma residual dos quadrados da ANOVA. O

desvio residual para GLM é  $Dm = 2 (\log_e Ls - \log_e Lm)$ , sendo  $Lm$  a semelhança maximizada sob o modelo em questão e  $Ls$  é a probabilidade maximizada sob um modelo saturado (FOX 2016). As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R e o nível de significância foi estabelecido em  $\alpha = 0,05$ .

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi observada inibição entre os microrganismos dos produtos comerciais Onix® (*B. methylotrophicus* LBCC0786) e Lalstop K61 (*S. griseovirides* LBCC0431) de acordo com as variáveis analisados (Tabela 5). Os microrganismos submetidos a exposição simultânea em placas de Petri com TSA sem divisão (forma direta) e bipartida (indireta) não diferiram entre si pelo teste de Tukey em  $\alpha = 0,05$  (Figura 2).

**Tabela 5.** Exposição simultânea e crescimento de *Bacillus methylotrophicus* e *Streptomyces griseovirides* em placas de Petri não bipartido, aos 4 dias.

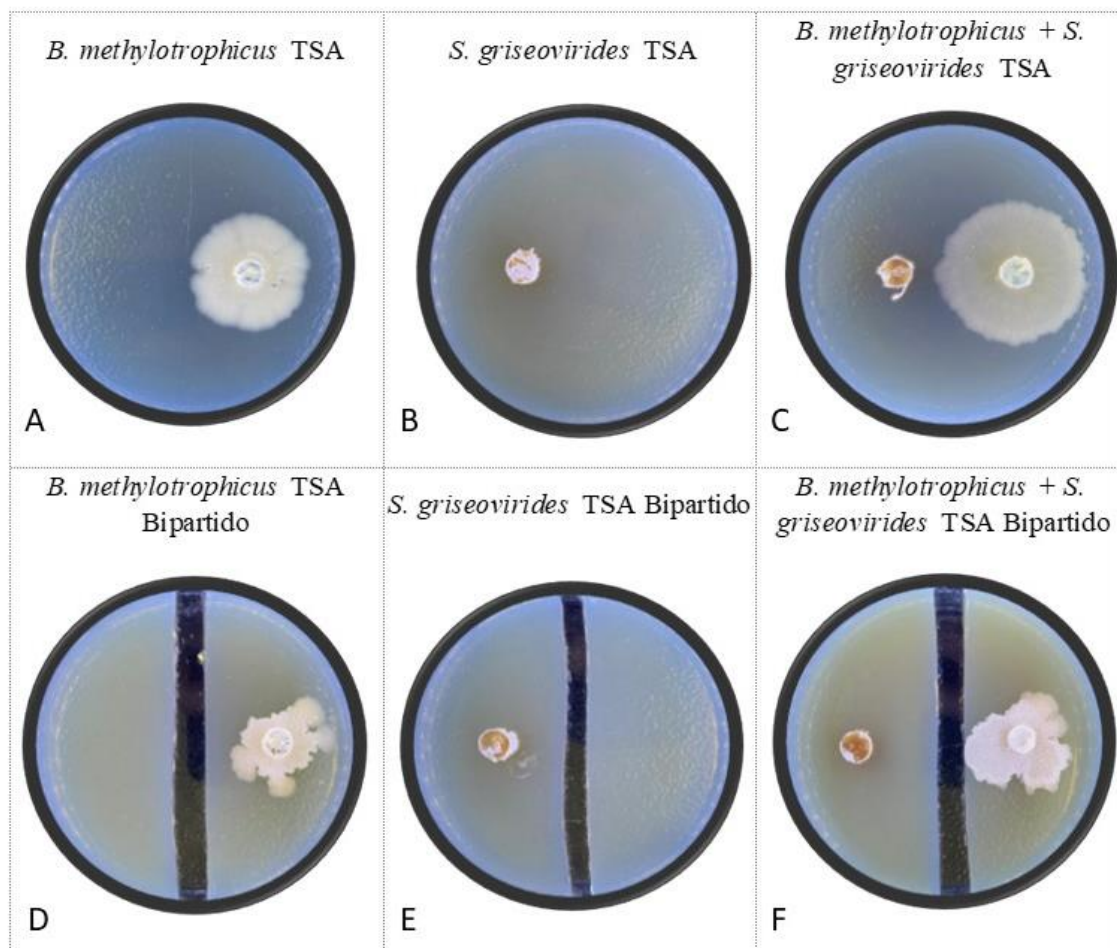
Tratamento	Valor F	Valor P	Média-Agrupamento
Onix® TSA	0,94	0,355	3,933 a
Onix® x K61 TSA			4,016 a
K61 TSA	1,00	0,341	1,350 a
K61 x Onix TSA			1,300 a
Onix® TSA bipartido	0,06	0,809	3,618 a
Onix® x K61 TSA bipartido			3,633 a
K61 TSA bipartido			1,383 a
K61 x Onix® TSA bipartido	0,08	0,787	1,400 a

Médias seguidas de mesma letra minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

Diferente do que foi observado neste estudo, Widyantoro et al. (2019) relataram incompatibilidade entre *Streptomyces* e *Bacillus* em meio de cultura caracterizados pela formação de zonas claras de inibição entre os dois microrganismos. Os trabalhos de Hasani et al. (2014) evidenciam que os antibióticos produzidos por *Streptomyces* possuem distintos mecanismos de ação, podendo danificar a parede celular.

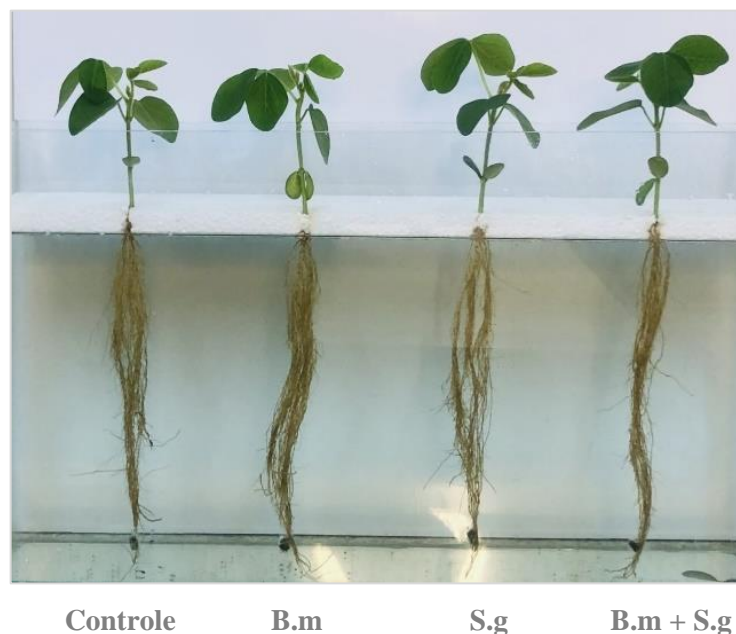
Os efeitos da interação entre microrganismos são dependentes de inúmeros fatores, como a espécie e a cepa de interesse (GRAÇAS, 2015). Este fato explica a compatibilidade obtida neste trabalho, entre cepa (LBCC0786) e a cepa (LBCC0431) já que o sinergismo nesse caso a ausência da diferença estatística, esse sinergismo obtido entre

os microrganismos neste estudo, estão relacionados a espécie e cepa, além dos tipos de compostos produzidos por cada bactéria de acordo com a versatilidade dos mecanismos de ação.

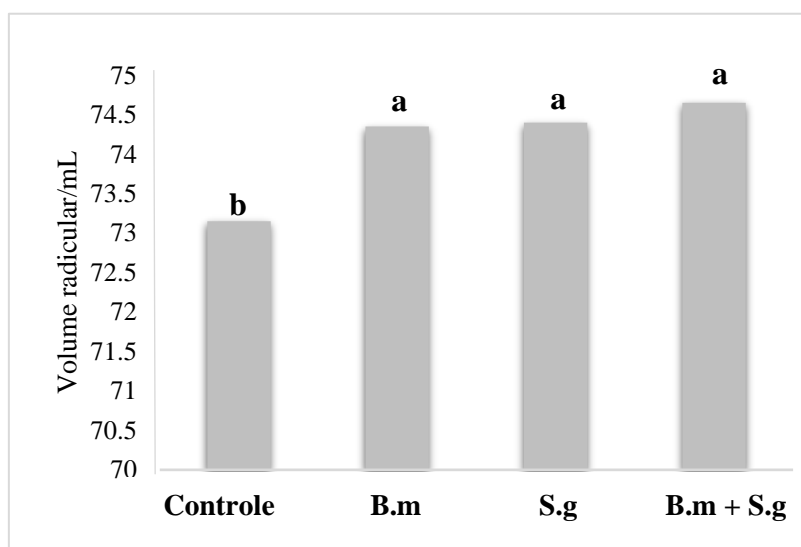


**Figura 2.** A. *B. methylotrophicus* em meio TSA. B. *S. griseovirides* em meio TSA. C. *B. methylotrophicus* X *S. griseovirides*. D. *B. methylotrophicus* em meio TSA bipartido. E. *S. griseovirides* em meio TSA bipartido. F. *B. methylotrophicus* X *S. griseovirides* em meio TSA bipartido.

O ensaio conduzido em casa de vegetação para verificar o desenvolvimento das plantas utilizando cepa LBCC0786 (B.m) e cepa LBCC043 (S.g) corroborou com os resultados obtidos em laboratório onde não houve interferência negativa no uso combinado dos produtos. Foi possível observar na variável correspondente ao volume radicular que, não houve diferença entre os tratamentos, mas se diferiram do controle ao nível de significância em Tukey a 5% , com p-valor  $3.017e^{-06}$  (Figura 3 e 4).



**Figura 3.** Aspecto visual de plantas de soja aos 25 dias após os tratamentos



**Figura 4.** Volume radicular avaliado aos 25 dias.

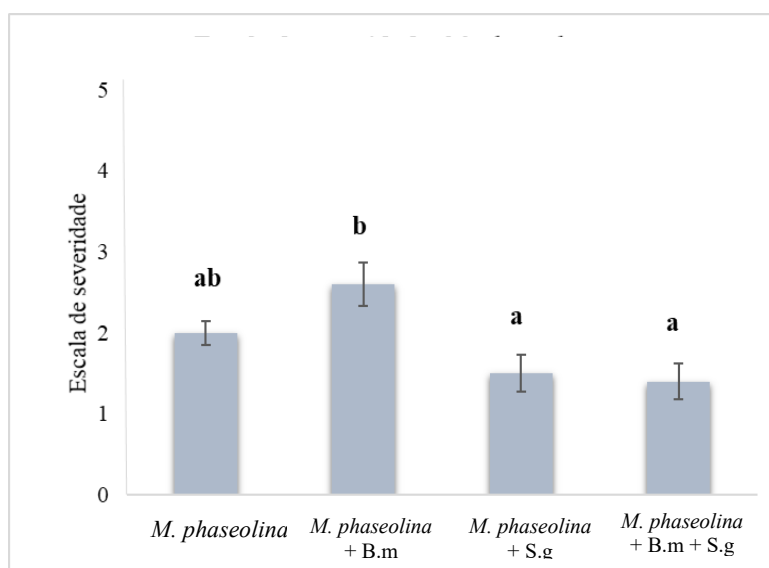
Para as variáveis referentes a massa fresca de raiz e parte aérea, assim como massa seca de raiz e parte aérea não foram obtidas diferenças significativas entre os tratamentos. Este resultado fortalece a hipótese de que não há interferência negativa no desenvolvimento de soja quando utilizamos cepa LBCC0786 e cepa LBCC0431 na mesma aplicação. Os microrganismos formam arranjos complexos de interações. E essas interações podem ter impactos distintos, podendo ser positivos, negativos ou neutros sobre as espécies interagentes. (FAUST; RAES 2012; FREDRICKSON, 1977; PHILLIPOT et al., 2013; SMID; LACROIX, 2013; HE et al., 2013).

Os trabalhos de Broadbent et al. (1971), Merriman et al. (1974) e Bettioli (2019) demonstraram em seus estudos que isolados de *Bacillus* spp. e *Streptomyces* spp.,

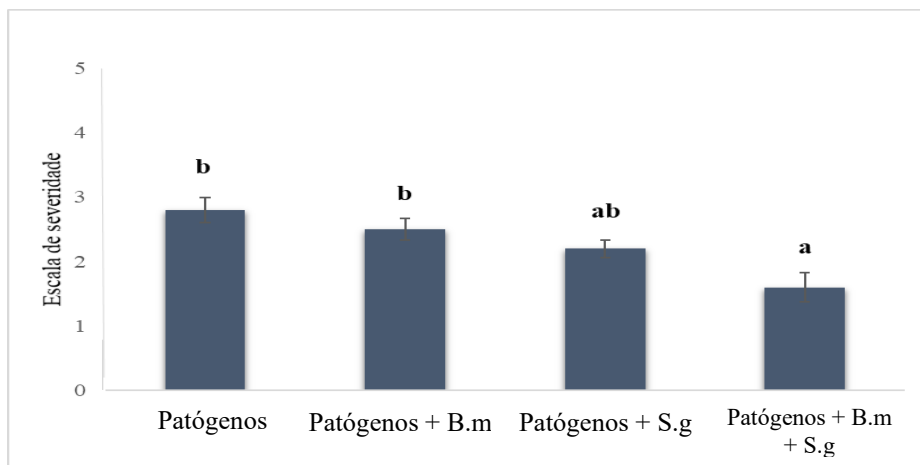
selecionados para controle biológico de patógenos radiculares como *Rhizoctonia solani*, promoveram o crescimento de plantas. Segundo dados de literatura, metabólitos produzidos a partir de *Bacillus* spp., apresentam características importantes como a ocorrência de interações benéficas entre o microrganismo, ambiente biótico e abiótico, a planta hospedeira e antagonista contra patógenos (BUTT et al, 1999; FUENTES-RAMIREZ e CABALLERO-MELLADO, 2006).

Os efeitos das rizobactérias, dentre as quais podemos encontrar as do gênero *Bacillus* no desenvolvimento vegetal, são inúmeros, incluindo efeitos benéficos em situações de emergência e na promoção do crescimento vegetal (SCHISLER, 2004), bem como no combate a fungos fitopatogênicos (ARAÚJO et al., 2005; ARAÚJO, GUERREIRO., 2010)

Nos ensaios de eficácia, para a avaliação de severidade seguindo a escala de notas (SOARES; MEYER, 2019), observou-se que quando o fungo (*M. phaseolina*) foi inoculado isoladamente, houve diferença entre os tratamentos, mas não houve significância ao comparar com tratamento sem adição dos agentes de biocontrole. Por outro lado, quando inoculado *M. phaseolina* em associação com o *P. brachyurus* os tratamentos diferiram entre si e do tratamento sem a presença dos agentes de biocontrole. O tratamento que recebeu as duas cepas (LBCC0786 e LBCC 0431) diferiu estatisticamente do controle, apresentando menor nota de severidade na presença dos dois patógenos com p-valor = 0,0003845 (Figura 5 e 6).



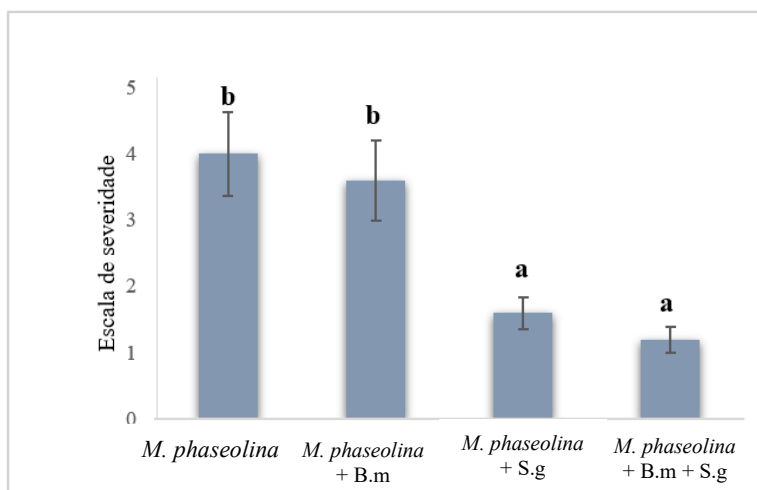
**Figura 5.** Índice de severidade de *M. phaseolina* avaliados aos 45 dias em soja



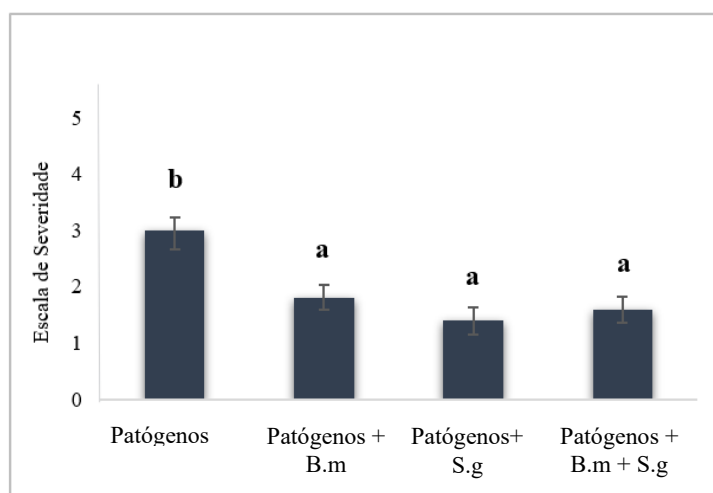
**Figura 6.** Índice de severidade de *M. phaseolina* em associação com *P. brachyurus* avaliados aos 45 dias em soja

Para a avaliação de severidade no segundo experimento, observou-se que quando apenas o fungo foi inoculado houve diferença entre os tratamentos (Figura 7). O tratamento utilizando cepa LBCC0431 diferiu do controle e do tratamento apenas com a cepa LBCC0786 com p-valor = 0.0001548. Quando inoculado o fungo em associação com o nematoide os tratamentos diferiram entre si e o controle (Figura 8). O tratamento que recebeu as duas cepas (LBCC0786 e LBCC0431) diferiu do controle, apresentando menor nota de severidade concomitante aos tratamentos onde utilizou-se apenas a cepa LBCC0786 e LBCC0431, na presença dos dois patógenos com p-valor = 0,001809.





**Figura 7.** Severidade de *M. phaseolina* avaliados aos 45 dias em soja



**Figura 8.** Severidade de *M. phaseolina* em associação com *P. brachyurus* avaliados aos 45 dias em soja.

Fungos fitopatogênicos habitantes do solo, como no caso de *M. phaseolina*, são de difícil controle, principalmente por formarem estruturas de resistência, os microescleródios. O controle químico não tem sido efetivo, economicamente viável e, em vista dos problemas ambientais a rotação de culturas e o controle biológico estão dentre as melhores opções de manejo (SANTOS et al., 2010).

Logo, as actinobactérias têm sido estudadas com alternativa ao uso convencional de produtos químicos. E em virtude dos estudos sobre o gênero *Streptomyces*, o isolado *S. griseovirides* (LBCC0431) foi escolhido para o controle de *M. phaseolina* no tratamento de sementes devido a versatilidade de mecanismos de ação do microrganismo e o seu potencial no controle de patógenos de solo.

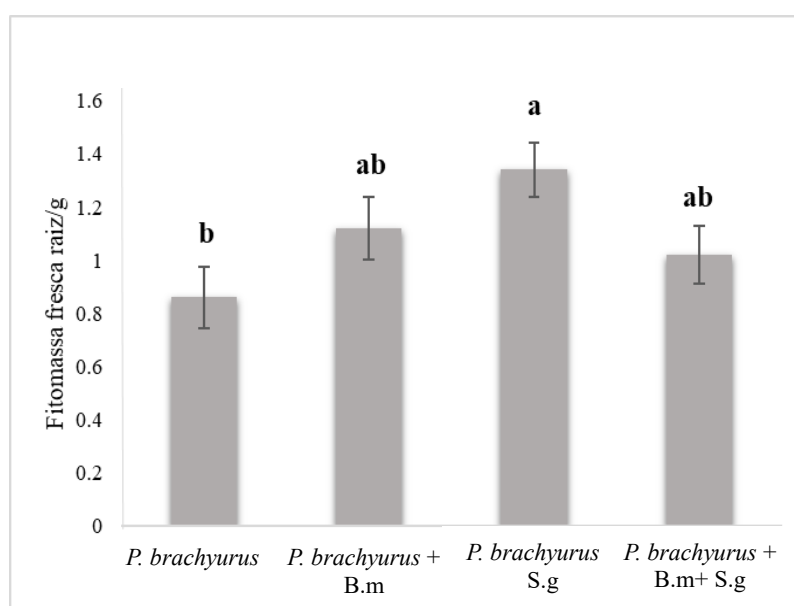
Sendo esses a incorporação no solo de uma fonte de carbono lábil, que é gerenciada para se decompor anaerobicamente aumentando o teor de umidade do solo e cobrindo com uma lona para limitar as trocas gasosas e a perda de umidade. Sistemas de

tratamento de tratamento de sementes com diferentes taxas de várias alterações orgânicas foram examinados sob diferentes condições ambientais contra vários patógenos de plantas do solo (ROSSKOPF et al., 2015 ; SHRESTHA et al., 2016), nematoides parasitas de plantas (HEWAVITHARANA et al., 2014 ) e ervas daninhas (PAUDEL et al., 2018 ; SHENNAN et al., 2018 ; SHRESTHA et al., 2018).

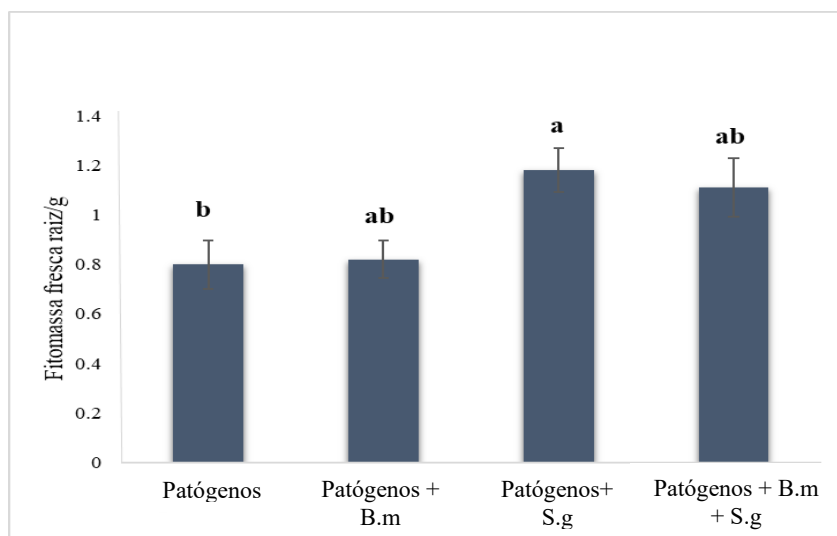
Tiwari e Gupta (2014) destacam a relevância da produção de antibióticos produzidos por *Streptomyces* spp. no controle de microrganismos patogênicos, assim como, na utilização de produtos naturais, destacando a produção de compostos bioativos como por exemplo o extrato acetato de etila (BORBA., 2016).

Um estudo utilizando sementes de milho, demonstrou que isolados de *Streptomyces* spp. são capazes de reduzir a incidência de microrganismos fitopatogênicos como *Curvularia lunata* e *Colletotrichum* sp. em até 90%, devido a diminuição da mortalidade de plântulas, causadas por doenças ligadas às sementes (BRESSAN; FIGUEIREDO, 2001).

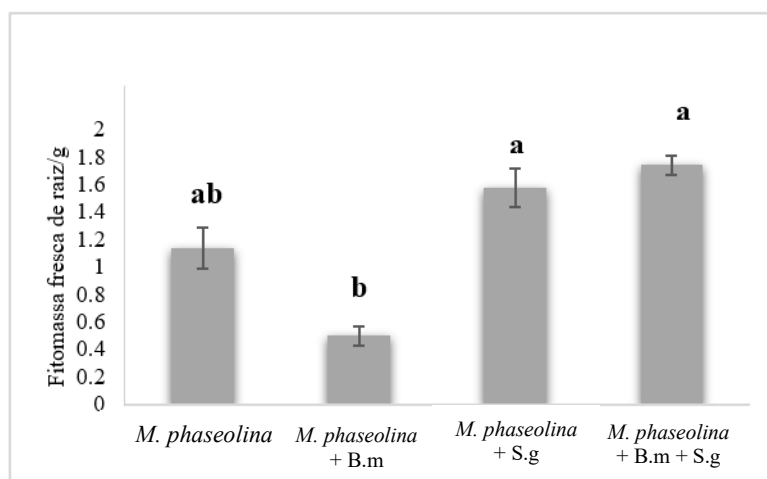
Não houve diferença significativa para massa fresca de raiz quando apenas o fungo (*M. phaseolina*) foi inoculado. Entretanto, houve diferença entre o tratamento utilizando a cepa LBCC0431 comparado ao controle quando inoculado apenas o nematoide (*P. brachyurus*) com p-valor = 0,03311. O mesmo resultado foi observado ao inocular os dois patógenos, onde o tratamento com a cepa LBCC0431 também diferiu significativamente do controle proporcionando maior massa fresca de raiz com p-valor = 0.0133 (Figura 9 e 10).



**Figura 9.** Massa fresca de raízes com inoculação de *P. brachyurus*



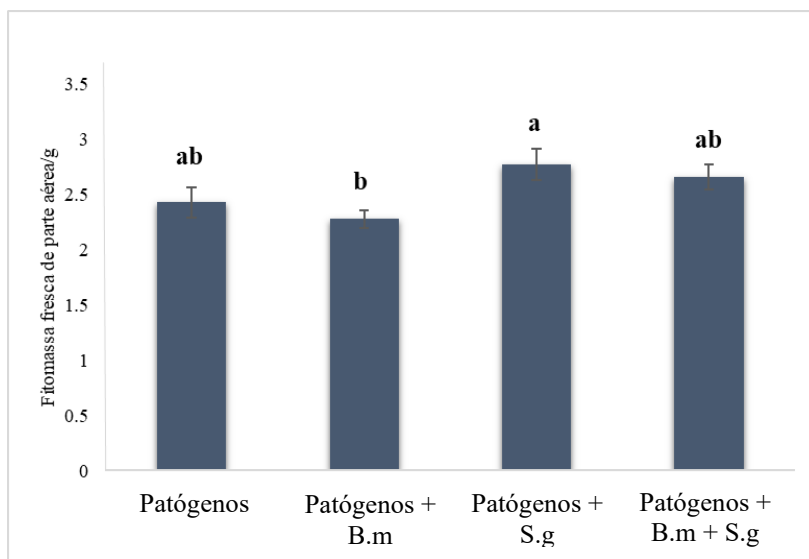
**Figura 10.** Massa fresca de raízes com inoculação de *P. brachyurus* em associação com *M. phaseolina*



**Figura 11.** Massa fresca de raízes com inoculação de *M. phaseolina*

No segundo experimento, houve diferença para massa fresca de raiz quando apenas *M. phaseolina* foi inoculada, com p-valor: 0,01567 (Figura 11). Os tratamentos contendo *S. griseovirides* se diferiram do tratamento com *B. methylotrophicus*.

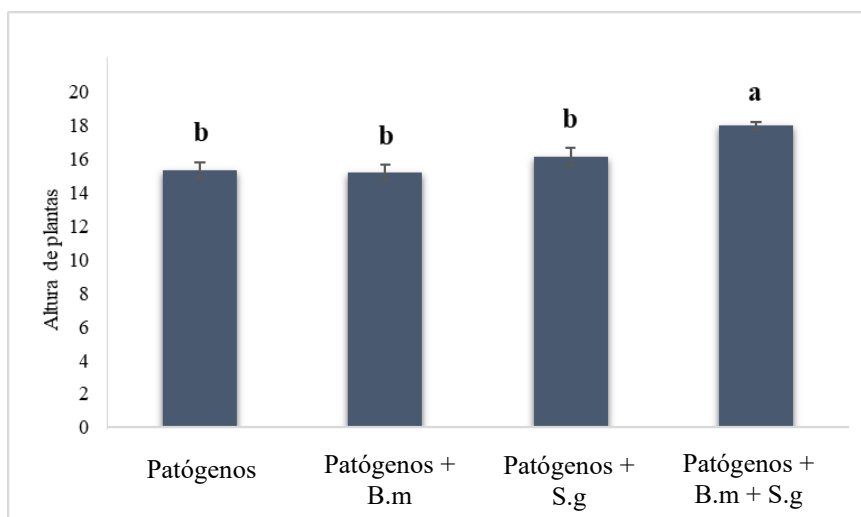
A variável referente a massa fresca de parte aérea não demonstrou diferença significativa quando inoculado apenas o fungo (*M. phaseolina*) assim como inoculado somente o nematoide (*P. brachyurus*). Quando houve a associação da inoculação dos dois patógenos não houve diferença entre o tratamento controle, onde só havia a presença de patógenos, entretanto os tratamentos diferiram entre si. O tratamento com a cepa LBCC0431 apresentou maior massa fresca de parte aérea quando comparado ao tratamento com a cepa LBCC0786 com p-valor = 0.02618 (Figura 12).



**Figura 12.** Massa fresca de parte aérea com inoculação de *P. brachyurus* em associação com *M. phaseolina*

Segundo Sedeghi (2012) evidenciaram o efeito benéfico e a interferência de actinobactérias no desenvolvimento de plantas. SADEGHI et al., (2012) avaliou a promoção de crescimento de plantas utilizando isolados de *Streptomyces* e aumentos significativos na taxa de germinação, porcentagem e uniformidade, além de comprimento e peso seco em comparação com ao controle foram obtidos.

Não houve diferença entre a massa fresca de parte aérea, na avaliação de altura de plantas quando os patógenos foram inoculados separadamente. Entretanto, na associação de *M. phaseolina* e *P. brachyurus* a altura de plantas diferiu de todos os tratamentos, inclusive do controle quando se utilizou a cepa LBCC0786 e a cepa LBCC0431 na mesma aplicação (Figura 13).



**Figura 13** Altura de plantas com inoculação de *P. brachyurus* em associação com *M. phaseolina*

A principal utilização das actinobactérias como *Bacillus* estão direcionada no controle de fungos e bactérias patogênicas; isto é elucidado neste trabalho com a redução da severidade de *M. phaseolina* de forma isolada e em associação com o nematoide *P. brachyurus*. Bem como, tratamentos com o agente de biocontrole *S. griseovirides* contribuíram para maior massa fresca de raízes, parte aérea e altura de plantas.

Observa-se efetividade no uso de *Bacillus* no controle de *Fusarium oxysporum* causador da murchadeira em trigo e de *Colletotrichum musae*, agente causador da antracnose na cultura da banana (TAECHOWISAN; PEBERDY; LUMYONG, 2003), no controle de *Rhizoctonia solani* e na murcha bacteriana do tomateiro (SABARATNAM; TRAQUAIR, 2002; CARRER, 2002.), além do controle de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho (BRESSAN; FIGUEIREDO 2003).

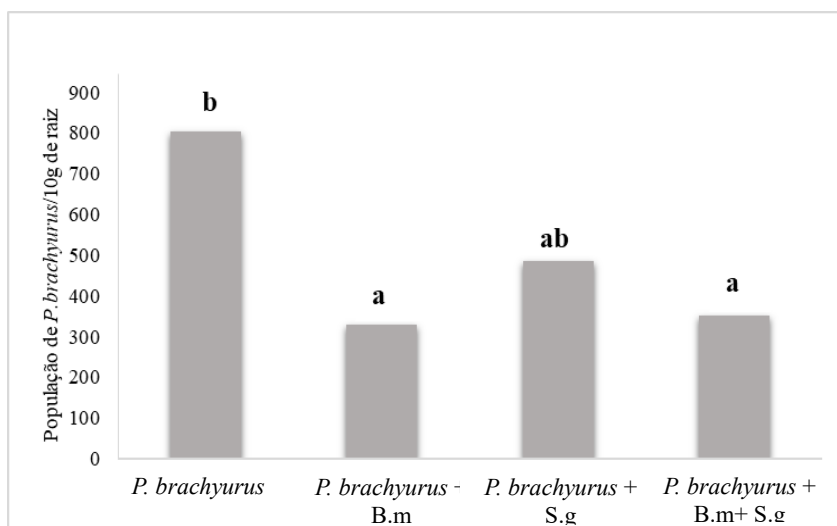
Estudos anteriores corroboram com os resultados obtidos neste trabalho, reforçando a capacidade do gênero *Streptomyces* em compor uma importante ferramenta no controle de patógenos de solo.

De acordo com Tahvonen, Hannukkala, Avikainen (1995) o efeito do tratamento de sementes com *Streptomyces* para manejo de podridões de raízes foi estudado em condições de campo, onde se observou efetividade na redução da doença radicular.

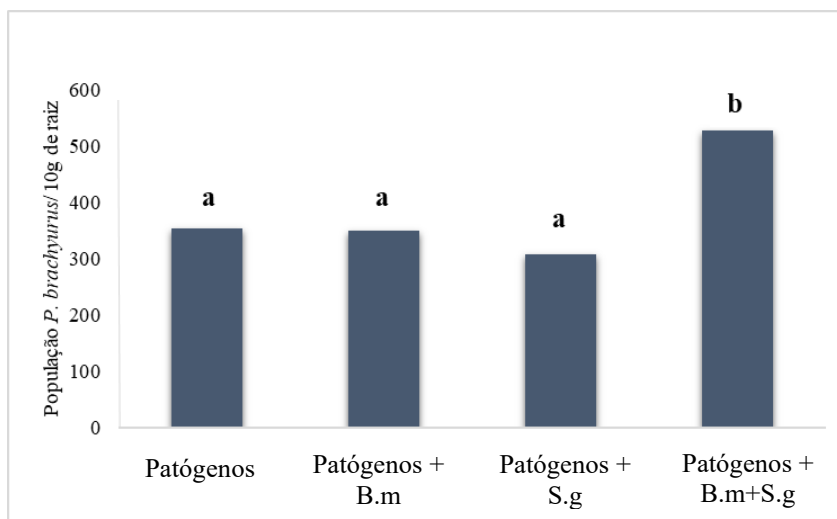
Além disso, estudos realizados por Bressan e Figueiredo (2001) isolados de *Streptomyces* spp. apresentaram efetividade antagonista no controle de *Stenocarpella maydis* em condições *in vitro* e em sementes de milho.

Avaliando a população de *P. brachyurus* nas raízes quando inoculado apenas o nematoide, foi possível observar diferença significativa com p valor = 0,01434. Os

tratamentos com a cepa LBCC0786, e a cepa LBCC0786+ cepa LBCC0431 reduziram a população de *P. brachyurus*/10g de raízes. Quando houve a associação de *P. brachyurus* com *M. phaseolina*, o tratamento com as duas cepas (LBCC0786+ LBCC0431) diferiu dos demais apresentando maior população de nematoides em 10 gramas de raízes (figura 14 e 15).



**Figura 14** Avaliação da população de *P. brachyurus*/10g de raízes



**Figura 15.** Avaliação da população de *P. brachyurus*/10g de raízes em associação com *M. phaseolina*

Quando ocorreu a inoculação dos dois patógenos (*P. brachyurus* + *M. phaseolina*), as populações do nematoide se comportaram de maneira distinta. E isto pode ser explicado pela relação entre os microrganismos, os microrganismos produzem

compostos que alteram a rizosfera, tornando a multiplicação de patógenos menos eficiente. Os microrganismos do solo auxiliam na decomposição da biomassa, na circulação de elementos utilizados na síntese das estruturas biológicas, no fornecimento de nutrientes às plantas, na biodegradação de impurezas e na manutenção da estrutura do solo.

Um complexo de doenças é formado de uma interação sinérgica entre dois microrganismos. As interações de sinergismo podem ser positivas quando a associação entre um nematoide e um patógeno promovem danos superiores à planta comparados aos danos individuais. Segundo Cattelan (1999), há sinergismo entre bactérias promotoras de crescimento em plantas e bactérias fixadoras de N<sub>2</sub> em leguminosas, o que confirma os resultados apresentados neste trabalho, observando-se efeito da coinoculação.

A interação pode ser descrita como antagônica, quando a associação entre um nematoide e um patógeno resulta em danos menores do que a soma de dano de cada organismo. Quando a associação entre nematoide e fungo promovem danos equivalentes à soma dos danos individuais, a interação pode ser relatada como neutra (BACK et al., 2002).

Observando apenas a inoculação dos patógenos; sem adição dos agentes de biocontrole, a inoculação conjunta do nematoide e de *M. phaseolina*, resultou em uma menor população de *P. brachyurus* quando comparado a inoculação apenas do nematoide. Esta visão é apoiada por Jorgenson (1970); Ketudat (1969) e Costa e colaboradores (2020) onde, em um complexo de doenças com a presença de fungos e nematoides, o declínio das populações de nematoides pode ser relacionado com a competição entre os dois microrganismos por espaço radicular e nutrientes. Além disso, quando ocorre complexo de doenças; as plantas podem ser mais predispostas a senescência precoce e morte (GRIFFIN et al., 1993; WALKER et al., 1998).

Em contrapartida, resultados obtidos por Al-Hazmi e Al-Nadary (2015) demonstraram que a inoculação simultânea do nematoide *M. incognita* raça 2 e o fungo *Rhizoctonia solani* em feijoeiro, aumentou o número de galhas e o índice de podridão radicular. Isto pode estar relacionado com o hábito de parasitismo do nematoide, o comportamento do patógeno e a cultura de estudo.

De acordo com Bellé, Fontana (2018) as doenças radiculares e vasculares estão entre as principais causas de redução na produtividade de culturas de interesse econômico mundial. O controle de doenças radiculares é dificultado, pois os patógenos coevoluíram com as plantas por milhões de anos e estão altamente adaptados ao ambiente subterrâneo

em associação com o hospedeiro (MICHEREFF et al., 2005).

Ao avaliar somente a inoculação de *P. brachyurus*, os tratamentos com o agente de controle biológico *B. methylotrophicus* de forma isolada e em associação com *S. griseovirides* proporcionaram a redução populacional do nematoide.

As bactérias estão dentre os microrganismos mais estudados como potenciais agentes de controle biológico com efeito nematicida (MACHADO et al., 2012). Essas bactérias apresentam diferentes modos de ação, como a produção de substâncias bactericidas, fungicidas e nematicidas que inibem o desenvolvimento dos patógenos (LUZ, 1996).

As bactérias atuam por meio do parasitismo nos nematoides produzindo antibióticos, de toxinas e enzimas, da indução de resistência, além de promover o desenvolvimento das plantas e interferir no processo de reconhecimento planta-hospedeiro (STIRLING, 1991; FAVORETO et al., 2019). Assim, os produtos à base do gênero *Bacillus* predominam sobre outros microrganismos de biocontrole e são considerados ótimos candidatos para o desenvolvimento de biopesticidas eficientes (TORRES et al. 2017).

Trabalhos anteriores exploraram a eficácia de bactérias do gênero *Bacillus methylotrophicus* no controle de diferentes gêneros de fitonematoides. Estudos realizados por Zhou et al (2016) para controle de *P. brachyurus* em triagem *in vitro* e experimentos em condições de estufa, foi obtido sucesso na seleção de agentes de controle biológico. Nos estudos, *B. methylotrophicus*, se mostrou eficaz na redução da doença provocada pelo nematoide das galhas em repetidos testes de campo (NUNES, MONTEIRO, POMELA., 2010; CARVALHO., 2018). Ainda no trabalho de Zhou et al. (2016), os autores observaram que a produção de tomateiros infectados com *M. incognita* utilizando a aplicação de *B. methylotrophicus* resultou em incremento de produtividade e promoção de crescimento.

Em condições de casa de vegetação, *B. methylotrophicus*, afetou o fator de reprodução de *M. incognita* de forma negativa em plantas de algodão, aos 180 dias após a inoculação dos nematoides (FAVERA, 2014). Trabalhos recentes utilizando a mesma cepa de *Bacillus methylotrophicus* deste projeto, ratificam a eficácia do agente de biocontrole como uma ferramenta expressiva no controle do nematoide das lesões.

Estudos realizados por Silva (2017) mostraram que o microrganismo *B. methylotrophicus* foi eficiente no controle de *P. brachyurus* em todo o ciclo da cultura da soja em experimento conduzido em campo, proporcionando redução significativa das



populações de nematoide na área. De acordo com o trabalho de Marçal (2019) *B. methylotrophicus* expressou uma taxa de redução no número populacional de *P. brachyurus* em raízes de soja quando comparado com o controle, em três épocas analisadas; similar aos resultados encontrados neste trabalho. Além disso, o autor verificou maiores incrementos de produtividade ao utilizar o microrganismo.

Em geral, os dados da literatura mostram que a ação do agente bioquímico individual contra os fitonematoides é ineficaz. Como resultado, combinar a esses microrganismos, se mostra um forte nematicida, com fungos ou bactérias compatíveis é intrigante. A utilização dos agentes de biocontrole promoveram a redução da população de *P. brachyurus*,

Como resultado, a combinação desses microrganismos parece promissora, pois há um efeito aditivo na redução das taxas de reprodução de nematoides em galhas quando ambos são usados simultaneamente. Estudos futuros poderiam incluir o uso desses microrganismos em mudas antes do tratamento de sementes ajudam no desenvolvimento e na germinação das plantas. Sendo necessários estudos para avaliar quais são os efeitos ativados na planta que resultam na promoção do crescimento.

## CONCLUSÕES

De acordo com os experimentos executados e as variáveis analisadas neste trabalho, o uso de Onix (*Bacillus methylotrophicus* LBCC0786) associado ao Lalstop K61 (*S. griseovirides* LBCC0431) se mostraram produtos eficazes no manejo com potencial referente ao patossistema *P. brachyurus* e *M. phaseolina* na cultura da soja.

## REFERÊNCIAS

AL-HAZMI, A. S.; AL-NADARY, S. N. Interaction between *Meloidogyne incognita* and *Rhizoctonia solani* on green beans. Saudi Journal of Biological Sciences, v. 22, n. 5, p. 570-574, 2015.

ALMEIDA, A. M. R. et al. *Macrophomina phaseolina* em soja. Embrapa Soja- Documentos (INFOTECA-E), 2014.

ALMEIDA, A.M.R.; TORRES, E.; FARIAS, J.R.B.; BENATO, L.C; PINTO, M.C.; MARIN, S.R.R. *Macrophomina phaseolina* em soja: Sistema de semeadura, sobrevivência em restos de cultura e diversidade genética. Londrina-PR: Embrapa Soja, 2001, 47p.

AMORIM, L.; REZENDE, J.A.M. & BERGAMIN FILHO, A. 2011. Manual de Fitopatologia. Piracicaba: Agronômica Ceres 1(4): 704 p.

ARAUJO, Fabio Fernando de; GUERREIRO, Renato Tadeu. Bioprospection of *Bacillus* isolates promoters of corn growth in natural and sterile soil. Ciência e Agrotecnologia, v. 34, p. 837-844, 2010.

ARAÚJO, Fábio Fernando; HENNING, Ademir Assis; HUNGRIA, Mariangela. Fitohormônios e antibióticos produzidos por *Bacillus subtilis* e seus efeitos em fungos patogênicos de sementes e no desenvolvimento radicular da soja. Revista Mundial de Microbiologia e Biotecnologia , v. 21, n. 8, pág. 1639-1645, 2005

BACK, MA; HAYDOCK, PPJ; JENKINSON, P. Complexos de doenças envolvendo nematóides parasitas de plantas e patógenos do solo. Fitopatologia , v. 51, n. 6, pág. 683-697, 2002.

BARBOSA, Julierme Zimmer et al. Bactérias e fungos benéficos na endosfera das plantas. Revista Agrogeoambiental, v. 7, n. 3, 2015.

BELLÉ, Rafael; FONTANA, Daniele Cristina. Patógenos de solo: principais doenças

vasculares e radiculares e formas de controle. Enciclopédia biosfera, v. 15, n. 28, 2018.

BETTIOL, Wagner et al. Produtos comerciais à base de Trichoderma. Trichoderma, p. 45, 2019.

BOARETTO, C; DANELLI, A.L.D. Podridão cinzenta da raiz. In: Reis, E. M.; Casa, R. T. Doenças da soja: etiologia, sintomatologia, diagnose e manejo integrado. Passo Fundo: Berthier, 2012. p. 281-296.

BORBA, Camila Beatriz Atanásio. Avaliação de metabólito de Streptomyces sp., sua atividade antimicrobiana e citotoxicidade; identificação morfológica e molecular da actinobactéria. 2016. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco.

BRESSAN, W.; FIGUEIREDO, J. E. F. Controle de Fusarium moniliforme em sementes de milho por actinomicetos. Embrapa Milho e Sorgo-Comunicado Técnico (INFOTECA-E), 2003.

BRESSAN, W.; FIGUEIREDO, J. E. F. Potencial de isolados de Streptomyces spp. no controle de Stenocarpella maydis em sementes de milho. Embrapa Milho e Sorgo. Comunicado técnico, 2003.

BROADBENT, Patricia; BAKER, K. F.; WATERWORTH, Yvonne. Bacteria and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in Australian soils. Australian Journal of Biological Sciences, v. 24, n. 4, p. 925-944, 1971.

BUTT, T.M., HARRIS, J.G., POWELL, K. Microbial Biopesticides: The European Scene., In: Biopesticides: use and delivery. Hall, F.R., Menn, J.J. (eds), pp. 23-44, Humana Press. Totowa, 1999.

CARRER, R.F. Actinomicetos como agentes de biocontrole de doenças e como promotores de crescimento do tomateiro. 2002. 78 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

CARVALHO, Patrícia Honorato de. Controle biológico e alternativo de *Meloidogyne*

*incognita* e *M. javanica* em tomateiro. 2017. xvi, 82 f., il. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia)—Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

CATTELAN, A.J. Métodos qualitativos para determinação de características bioquímicas e fisiológicas associadas com bactérias promotoras de crescimento vegetal. Londrina, Embrapa Soja, 1999. 36p.

COELHO, Thayane Nascimento; MARTINS, Warlyton Silva; DE MIRANDA, Flávia Fernandes Ribeiro. Controle biológico no manejo de *Pratylenchus brachyurus* em diferentes tratamentos na cultura da soja. Revista de Biotecnologia e Biodiversidade , v. 9, n. 3, pág. 274-278, 2021.

COLLANGE, B., NAVARRETE, M., PEYRE, G., MATEILLE, T., & TCHAMITCHIAN, M. Root-knot nematode (*Meloidogyne*) management in vegetable crop production: The challenge of an agronomic system analysis. Crop Protection, 30 (10), 1251-1262. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2011.04.016>. 2011.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Acompanhamento da Safra Brasileira, Safra 2020, Primeiro levantamento, Brasília, jan. de 2020. Disponível em [bhttps://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos](https://www.conab.gov.br/info-agro/safra/graos)>. Acesso em 20 janeiro. 2022.

CONAB. Acompanhamento da safra brasileira de grãos. Safra 2021/22. Terceiro levantamento, Brasília, v.9, N.3, p.1-99, dezembro, 2021.

COOLEN, W.A., D’HERDE, C.J. A method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent: State Agriculture Research Center, 1972. 77p.

CORREIA, Kamila Câmara; MICHEREFF, Sami Jorge. Fundamentos e desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos. Desafios do manejo de doenças radiculares causadas por fungos. Recife, Brazil: Universidade Federal Rural de Pernambuco, p. 1-16, 2018.

COVOLO, G. Nematóides. In: SANTOS, O. S. (Coord). A cultura da soja. Rio de Janeiro: Globo, 1998. p. 199-211.

DA COSTA, Marília Layse Alves et al. Efeito da ação parasitária frente ao crescimento e desenvolvimento de espécies vegetais. *Research, Society and Development*, v. 9, n. 9, p. e947998066-e947998066, 2020.

DE ANDRADE, Beatriz Rayana Damásio et al. Ação antagonista à *Macrophomina phaseolina* e *Fusarium oxysporum* e diversidade genética de bactérias obtidas de solo cultivado com *Vigna unguiculata* (L.) Walp. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, v. 26, n. 2, 2021.

DE OLIVEIRA, Luciana Gonçalves et al. Potencial De Biocontrole *Trichoderma* spp CONTRA *Macrophomina phaseolina* de feijão-caupi. *Pesquisa Agropecuária Pernambucana*, v. 26, n. 2, 2021.

DENNIS, C.; WEBSTER, J. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma* III. Hyphal interactions. *Transactions of the British Mycological Society*, v. 57, p. 359-363, 1971.

DEVRAJAN, K.; SEENIVASAN, N. Biochemical changes in banana roots due to *Meloidogyne incognita* infected with *Paecilomyces lilacinus*. *Current Nematology*, v. 13, n. 1. p. 1-5, 2002.

DIAS, W.P.; ASMUS, G.L.; SILVA, J.F.V; GARCIA, A.; CARNEIRO, G.E. de S. Nematoides. In: ALMEIDA, A.M.R.; SEIXAS, C.D.S. (Ed.). *Soja: doenças radiculares e de hastes e inter-relações com o manejo do solo e da cultura*. Londrina: Embrapa Soja, 2010. p.173-206.

EMBRAPA SOJA. *Tecnologias de Produção de Soja, Região Central do Brasil*. Sistema de Produção 1, versão eletrônica, Jan, 2003. Disponível em: <https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Soja/SojaCentralBrasil2003/doenca.htm>. Acesso em 20 janeiro. 2022.

FAUST, K.; RAES, J. Microbial interactions: from networks to models. *Nature Reviews: Microbiology*, v. 10, n. 8, p. 538-550, 2012. Disponível em: DOI: 10.1038/nrmicro2832.

FAVERA, D. D. Plantas de cobertura, cultivares e nematicidas no manejo de *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus brachyurus* em soja. Tese (Doutorado), Universidade Federal de Santa Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Santa Maria-RS, 2014.

FAVORETO, Luciany et al. Diagnose e manejo de fitonematoides na cultura da soja. Informe Agropecuário, v. 40, n. 306, p. 18-29, 2019.

FERNANDES, R. H.; VIEIRA, B. S.; FUGA, C. A. G.; LOPES, E. A. *Pochonia chlamydosporia* e *Bacillus subtilis* no controle de *Meloidogyne incognita* e *M. javanica* em mudas de tomateiro. Bioscience Journal, v. 30(1):34-38, 2014.

FERRAZ, L.C.C.B.; BROWN, D.J.F. Nematologia de Plantas: fundamentos e importância. Sociedade Brasileira de Nematologia. Manaus: Norma, 2016.

FOX, J. (2016). Generalized linear models. In *Applied regression analysis and generalized linear models* (3 ed., pp. 791). Los Angeles: SAGE.

FRANCHINI, J.C.; DEBIASI, H.; DIAS, W.P.; RAMOS JUNIOR, E.U.; SILVA, J.F.V. Perda de produtividade da soja em área infestada por nematoide das lesões radiculares na região médio norte do Mato Grosso. In: BERNARDI, A. C. de C.; NAIME, J. de M.; RESENDE, A.V. de; BASSOI, L.H.; INAMASU, R.Y. (Ed.). Agricultura de precisão: resultados de um novo olhar. Brasília: EMBRAPA, 2014. p.274-278.

FREDRICKSON, A. G. Behavior of mixed cultures of microorganisms. Annual Reviews in Microbiology, v. 31, p. 63-87, 1977. DOI: 10.1146/annurev.mi.31.100177.000431.

FUENTES-RAMIREZ, L.E., CABALLERO-MELLADO, J. Bacterial biofertilizers. In: PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Siddiqui, Z.A. (eds), pp. 143-172, Springer. Dordrecht, 2006.

GONZAGA, V. Caracterização morfológica, morfométrica e multiplicação in vitro das seis espécies mais comuns de *Pratylenchus Filipjev*, 1936 que ocorrem no Brasil. 2006. 79 f. Tese (Doutorado em Agronomia: Produção Vegetal) - Faculdade de Ciências Agrárias

e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2006.

GOULART, A. M. C. Aspectos gerais sobre nematoides das lesões radiculares (Gênero *Pratylenchus*). Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008. 30 p. Documentos 219.

GRAÇAS, J. P. Microrganismos estimulantes na agricultura. Série Produtor Rural, v. 59, 2015.

GRIFFIN GD, GRAY FA, JOHNSON DA, CREBS DL, 1993. Pathological relationship of *Meloidogyne hapla* and *Phytophthora megasperma* f.sp. *medicaginis* in *Medicago sativa* L. – importance of inoculation timing, soil texture, and temperature. *Nematropica*, 23, 183–93.

HARMAN, G.E. Myth and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease*, 84(4), 377-393. doi:10.1094/PDIS.2000.84.4.377, 2000.

HASANI A, KARIMINIK A and ISSAZADEH S, 2014. *Streptomyces*: Characteristics and Their Antimicrobial Activities. *Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res.* 2(1): 63-75.

HE, Q.; BERTNESS, M. D.; ALTIERI, A. H. Global shifts towards positive species interactions with increasing environmental stress. *Ecology Letters*, v. 16, n. 5, p. 695-706, 2013. DOI: DOI: 10.1111/ele.12080.

HEWAVITHARANA, Shashika S.; MAZZOLA, Mark. Carbon source-dependent effects of anaerobic soil disinfestation on soil microbiome and suppression of *Rhizoctonia solani* AG-5 and *Pratylenchus penetrans*. *Phytopathology*, v. 106, n. 9, p. 1015-1028, 2016.

INOMOTO, M. M.; MOTTA, L. C. C.; BELUTI, D. B.; MACHADO, A. C. Z. Reação de seis adubos verdes a *Meloidogyne javanica* e *Pratylenchus brachyurus*. *Nematologia Brasileira*, Brasília, v. 30, n. 1, p. 35-38, 2006

ISHIKAWA, Mayra Suemy et al. Seleção de cultivares de soja para resistência à podridão negra da raiz (*Macrophomina phaseolina*). *Summa phytopathologica*, v. 44, p. 38-44,



2018.

JORGENSON EC,. Antagonistic interaction of *Heterodera schachtii* (Schmidt) and *Fusarium oxysporum* (Woll.) on sugar beet. *Journal of Nematology* 2, 393–8. 1970.

JUNGES, E. Técnicas de microbiolização de sementes de milho, feijão, nabo forrageiro e aveia preta. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2012.

JUNIOR, RAMOS, BULHÕES. Densidade de plantas nos componentes produtivos e produtividade de cultivares de soja. *Revista de ciências agroambientais*, v.17, n.2, Cuiabá, MT, 2019.

KETUDAT U. The effects of some soilborne fungi on the sex ratio of *Heterodera rostochiensis* on tomato. *Nematologica*, 15, 229–33, 1969.

LI, Q.; CHEN, X.; JIANG, Y.; JIANG, C. Morphological Identification of Actinobacteria. In: *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications.*; 2016.

LUZ, W. C. da. Rizobactérias promotoras de crescimento de plantas e bioproteção. *Revisão Anual de Patologia de Plantas*, v. 4, p.1-49,1996.

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

MAHMOOD, F., SHAHID, M., HUSSAIN, S., SHAHZAD, T., TAHIR, M., IJAZ, M., HUSSAIN, A., MAHMOOD, K., IMRAN, M., AND BABAR, SAK 2017. Potencial estirpe promotora de crescimento de plantas *Bacillus* sp. Corantes azo descoloridos SR-2-1/1 através de NADH-ubiquinona: atividade de oxidorreductase . *Biorecurso. Technol.* 235:176-184.

MARÇAL, M. L. Nematicidas no manejo de nematoides na cultura da soja. Tese (Mestrado), Instituto Federal Goiano, Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, Urutai-GO, 2019.

MENEZES, M.; MACHADO, A. L. M.; DA SILVEIRA, M. D. C. V.; DA SILVA, R. L. X. Biocontrole de *Macrophomina phaseolina* com espécies de *Trichoderma* aplicadas no 36 tratamento de sementes de feijão e no solo. Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica, v. 1, p. 133-140, 2013.

MERRIMAN, P. R., PRICE, R. D., AND BAKER, K. F. . The effect of inoculation of seed with antagonists of *Rhizoctonia solani* on the growth of wheat. Australian Journal of Agricultural Research .25, 21 1-16. 1974

MICHEREFF, S. J.; ANDRADE, D. E. G. T.; PERUCH, L. A.; MENEZES, M. Importância dos patógenos e das doenças radiculares em solos tropicais. Ecologia e manejo de patógenos radiculares em solos tropicais, v. 1, p. 1-18, 2005.

MYCOBANK. *Macrophomina phaseolina*. Disponível em: <<http://www.mycobank.org/Biolomics.aspx?Table=Mycobank>>. Acesso em 20 janeiro. 2022.

NUNES, Henrique Teixeira; MONTEIRO, Antonio Carlos; POMELA, Alan William Vilela. Uso de agentes microbianos e químico para o controle de *Meloidogyne incognita* em soja. Acta Scientiarum. Agronomy, v. 32, n. 3, p. 403-409, 2010.

OLIVEIRA, Kethelin Cristine Laurindo de et al. Manejo biológico de *pratylenchus brachyurus* na cultura da soja. Revista Caatinga, v. 32, n. 1, p. 41-51, 2019.

PAUDEL, Bodh R. et al. Evaluating anaerobic soil disinfestation and other biological soil management strategies for open-field tomato production in Florida. Renewable Agriculture and Food Systems, v. 35, n. 3, p. 274-285, 2020.

PHILIPPOT, L.; RAAIJMAKERS, J. M.; LEMANCEAU, P.; VAN DER PUTTEN, W. H. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. Nature Reviews Microbiology, v. 11, n. 11, p. 789-799, 2013. Disponível em: DOI: 10.1038/nrmicro3109.

POLYANSKAYA, L.M.; OZERSKAYA, S.M.; KOCHKINA, G.A.; IVANUSHKINA, N.E.; GOLOVCHENKO, A.V.; ZVYAGINTSEV, D.G. The abundance and structure of

the root-associated microbial complexes of two greenhouse rose cultivars. *Microbiology*, New York, v.72, n. 4, p. 554-562, 2003.

ROSSKOPF, Erin N. et al. Desinfestação anaeróbica do solo e manejo de pragas do solo. In: *Corretivos orgânicos e supressividade do solo no manejo de doenças de plantas*. Springer, Cham, 2015. p. 277-305.

SABARATNAM, S.; TRAQUAIR, J.A. Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of rhizoctonia damping-off in tomato transplants. *Biological Control*, San Diego, v. 23, n. 3, p. 245-253, 2002.

SADEGHI, A. KARIMI, E.; DAHAJI, P. A.; JAVID, M. G.; DALVAND, Y.; ASKARI, H. Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil conditions. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 28, n. 4, p. 1503–1509, 2012.

SANTIAGO, D. C. Controle biológico de nematoides. In: *Congresso brasileiro de Nematologia*, 32. 2015, Londrina. Anais... Londrina: SBN, 2015. p. 307.

SANTIAGO, D. C. et al. Seleção de isolados de *Purpureocillium lilacinum* (Thom.) Samson para controle de *Meloidogyne paranaensis* em tomateiro. *Ciência Rural*, v. 36, n. 4, p. 1055-1064, 2006.

SANTOS, A. Princípios de controle de doenças. Bahia: Universidade Estadual do Sul da Bahia. 2014. Disponível em [http://www.uesb.br/utilitarios/modelos/monta.asp?site=fitopatologia&tex=i\\_03\\_sementes2.html](http://www.uesb.br/utilitarios/modelos/monta.asp?site=fitopatologia&tex=i_03_sementes2.html) Acesso em 20 janeiro. 2022.

SANTOS, PJC, et al. Utilização de *Pseudomonas fluorescens* no controle biológico de *Macrophomina phaseolina*. Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E), 2010.

SCHISLER, DA et al. Formulação de *Bacillus* spp. para o controle biológico de doenças de plantas. *Fitopatologia*, v. 94, n. 11, pág. 1267-1271, 2004.

SHENNAN, C. et al. Anaerobic soil disinfestation is an alternative to soil fumigation for control of some soilborne pathogens in strawberry production. *Plant pathology*, v. 67, n. 1, p. 51-66, 2018.

SHIROKIKH, I.G.; SHIROKIKH, A.A.; RODINA, N.A.; POLYANSKAYA, L.M.; BURKANNOVA, O.A. Effects of soil acidity and aluminum on the structure of microbial biomass in the Rhizosphere of Barley. *Eurasian Soil Science*, New York, v. 37, n.8, p.839-843. 2004.

SHRESTHA, Utsala; AUGÉ, Robert M.; BUTLER, David M. A meta-analysis of the impact of anaerobic soil disinfestation on pest suppression and yield of horticultural crops. *Frontiers in plant science*, v. 7, p. 1254, 2016.

SHRESTHA, Utsala; AUGÉ, Robert M.; BUTLER, David M. A meta-analysis of the impact of anaerobic soil disinfestation on pest suppression and yield of horticultural crops. *Frontiers in plant science*, v. 7, p. 1254, 2016.

SILVA, E. G. Resposta agrônômica do manejo químico e biológico de *Heterodera glycines* e *Pratylenchus brachyurus* em soja Tese (Mestrado), Instituto Federal Goiano, Programa de Pós-Graduação em Proteção de Plantas, Urutaí-GO, 2017.

SIMKIN, M.B.; WHEELER, B. E. J. Effects of dual interactions of *Puccinia hordei* and *Erysiphe graminis* on barley, cv. Zephyr. *Ann. Appl. Biol.*, v. 78, p. 237/250, 1974.

SINCLAIR, J. B.; BACKMAN, P. A. Compendium of soybean diseases. 3. ed. St. Paul: American Phytopathological Society, 1989.

SMID, E. J.; LACROIX, C. Microbe–microbe interactions in mixed culture food fermentations. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 24, n. 2, p. 148-154, 2013.

TAECHOWISAN, T.; PEBERDY, J.F.; LUMYONG, S. Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal activity. *World journal of microbiology and biotechnology*, New York, v. 19, n. 4, p. 381-385, 2003.

TAHVONEN, Risto; HANNUKALA, Asko; AVIKAINEN, Hanna. Efeito do tratamento de sementes de *Streptomyces griseoviridis* em cevada e trigo de primavera em experimentos de campo. *Agricultural and Food Science*, 1995, 4.4: 419-427.

TEJO, Débora Perdigão; DOS SANTOS FERNANDES, Carlos Henrique; BURATTO, Juliana Sawada. Fitonematoides e Estratégias Adotadas em seu Controle. *Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde*, v. 24, n. 2, p. 126-130, 2020.

TIWARI, K.; GUPTA, R. K. Bioactive Metabolites from Rare Actinomycetes. *Studies 67 in natural products chemistry*, v. 41, p. 419–512, 2014.

TORRES, M.J, BRANDAN, C.P, SABATÉ, D.C, PETROSELLI, G., ERRABALSELLS, R., AND AUDISIO, M. C. Atividade biológica do *Bacillus amyloliquefaciens* produtor de lipopeptídeos PGPBacCA1 sobre os patógenos *Phaseolus vulgaris* L. do feijão . *Biol. Controle* 105:93-99. 2017.

VIEIRA, B. C.; MASCIA, R.; SOUZA, J. C.; MOREIRA, J. A. A.; ROSA, T. E. A.; ARAÚJO, F.G.; ALVES, G. C. S. Emprego de *Bacillus amyloliquefaciens* e *Trichoderma harzianum* no manejo de *Helicotylenchus* sp. na cultura da soja. In: 34º CONGRESSO BRASILEIRO DE NEMATOLOGIA, 2017, Vitória-ES.

VINHOLES, P. S. Associação genômica para resistência da soja a *Meloidogyne javanica* e *Macrophomina phaseolina*. 2014. 115f. Tese (doutorado em fitotecnia). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

WALKER NR, KIRKPATRICK TL, ROTHROCK CS, 1998. Interaction between *Meloidogyne incognita* and *Thielaviopsis basicola* on cotton (*Gossypium hirsutum*). *Journal of Nematology*, 30, 415–22.

WHIPPS, J.M. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental botany*, Oxford, v. 52, p.487-511, Mar. 2001.

WIDYANTORO A, HADIWIYONO and SUBAGIYA, 2019. Antagonism and compatibility of biofertilizer bacteria toward *Fusarium oxysporum* F.sp. *Cubense*. *Asian Journal of Agriculture and Biology*. 7(2):263-268.

ZHOU, Lihong *et al.* Avaliação de agentes de controle biológico bacteriano para o controle da doença do nematoide das galhas em tomateiro. *Proteção de Cultivos*, v. 84, p. 8-13, 2016.