

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA a *Meloidogyne javanica* EM TOMATEIRO POR
RIZOBACTÉRIAS**

Ílari Soraia Brandão dos Santos Carmo
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

ÍLARI SORAIA BRANDÃO DOS SANTOS CARMO

**INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA a *Meloidogyne javanica* EM TOMATEIRO POR
RIZOBACTÉRIAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Leandro Grassi de Freitas

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2023**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

Carmo, Ílari Soraia Brandão dos Santos, 1995-
C287i Indução de resistência a *Meloidogyne javanica* em
2023 tomateiro por rizobactérias / Ílari Soraia Brandão dos Santos
Carmo. – Viçosa, MG, 2023.

1 dissertação eletrônica (32 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Leandro Grassi de Freitas.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Fitopatologia, 2023.

Referências bibliográficas: f. 26-32.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2024.170>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Tomate - Resistência a doenças e pragas.
2. Nematóide-das-galhas - Controle biológico. 3. Rizobactérias
promotoras de crescimento em plantas. I. Freitas, Leandro Grassi
de, 1963-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Fitopatologia. Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia.
III. Título.

CDD 22. ed. 635.64296

Bibliotecário(a) responsável: Alice Regina Pinto Pires CRB-6/2523


ÍLARI SORAIA BRANDÃO DOS SANTOS CARMO

INDUÇÃO DE RESISTÊNCIA a *Meloidogyne javanica* EM TOMATEIRO POR RIZOBACTÉRIAS


Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fitopatologia, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 15 de dezembro de 2023

Assentimento:

Documento assinado digitalmente
 **ÍLARI SORAIA BRANDAO DOS SANTOS CARMO**
Data: 15/07/2024 08:21:40-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ílari Soraia Brandão dos Santos Carmo

Documento assinado digitalmente
 **LEANDRO GRASSI DE FREITAS**
Data: 02/08/2024 11:39:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Leandro Grassi de Freitas
Orientador

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Silvana e minha irmã Gisele, que foram a minha força e me incentivaram a seguir com meus sonhos.

Ao meu noivo João, por todo amor, carinho, paciência e por estar comigo nessa jornada.

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar a pós-graduação.

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

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

Ao meu orientador Leandro Grassi de Freitas, pela orientação, paciência, confiança e dedicação.

Aos amigos do BIONEMA Dyênici, Cássia, Jadhe, Huarlen e Osmar, pelo convívio, pela amizade e colaboração;

Às minhas amigas Fernanda, Helen, Taise e Thainá por todo apoio, incentivo e amizade, pois mesmo de longe, foram essenciais.

A toda família Brandão por todo amor e força nos meses longe de casa.

Aos amigos do Departamento de Fitopatologia, pela parceria e amizade.

Às meninas da minha república Beatriz, Halina e Mariana, pela recepção, carinho e amizade.

RESUMO

CARMO, Ílari Soraia Brandão dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2023. **Indução de resistência a *Meloidogyne javanica* em tomateiro por rizobactérias.** Orientador: Leandro Grassi de Freitas.

Os fitonematoides são responsáveis por perdas em diversas culturas. A espécie *Meloidogyne javanica* se destaca como uma das que mais causam prejuízos à cultura do tomateiro. Considerado de difícil manejo por tratar de um patógeno habitante do solo, o uso de diferentes métodos de controle vem sendo aplicado, a exemplo do controle biológico. Atuando por diferentes mecanismos de ação e as características de crescimento e nutrição, as bactérias antagonistas tem ganhado cada vez mais espaço no mercado. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial de isolados de rizobactérias na degradação de quitina, na solubilização de fósforo e de potássio *in vitro*, avaliar a redução da penetração de J2 em raízes de tomateiro, e avaliar a capacidade dos isolados na indução de resistência sistêmica em plantas de tomate contra o fitonematoide *M. javanica*. As avaliações de degradação de quitina e solubilização de fósforo e de potássio foram realizadas por meio de testes *in vitro* em meios específicos para cada teste, sendo que a formação de halo ao redor da colônia bacteriana foi considerada resultado positivo para degradação de quitina ou solubilização de fósforo e de potássio nos testes. Na avaliação da redução de infectividade, plântulas de tomate foram inoculadas com suspensão das rizobactérias, 5 dias depois, foram inoculados 300 juvenis (J2) de *M. javanica* e 5 dias após infestação, os nematoides no interior das raízes foram corados com fucsina ácida para permitir a observação daqueles que haviam penetrado. Para avaliar a indução de resistência, os sistemas radiculares de plântulas de tomate foram separados em dois volumes sem causar injúrias e enterrados no solo de dois vasos distintos, posicionados lado a lado, mantendo a parte aérea íntegra e comum aos dois novos sistemas radiculares. Os tratamentos foram constituídos por: T1: (A) Mc-3 / (B) *Meloidogyne javanica*, T2: (A) água / (B) Mc-3+*M. javanica*, T3: (A) Cs-2 / (B) *M. javanica*, T4: (A) água / (B) Cs-2+*M. javanica*, T5: (A) Cs-12 / (B) *M. javanica*, T6: (A) água / (B) Cs-12+*M. javanica*, T7: (A) água / (B) *M. javanica*. Foram inoculados 500 ovos de *M. javanica* e 4 mL da suspensão bacteriana. As plantas foram mantidas em

casa de vegetação durante 45 dias e o número de ovos produzidos e de galhas formadas em cada planta foram contabilizados. Os isolados Mc-3, Cs-2 e Cs-12 foram capazes de degradar quitina. Apenas o isolado Cs-2 apresentou halo no teste de potássio. Nenhum dos isolados, formou halo no teste com fósforo adicionado ao meio. Os isolados testados não apresentaram efeito na penetração dos J2. Quanto ao teste de indução de resistência sistêmica, os isolados Mc-3, Cs-2 e Cs-12 mostraram ser eficientes agentes de controle biológico quando aplicados em vaso diferente de onde foram inoculados os ovos do nematoide, em relação a quando foram aplicados no mesmo vaso em que os ovos do nematoide foram inoculados, levando a crer que indução de resistência sistêmica, e não a ação direta sobre os ovos, foi o mecanismo de controle do nematoide.

Palavras-chave: Controle biológico, nematoide das galhas, PGPR, promoção de crescimento vegetal.

ABSTRACT

CARMO, Ílari Soraia Brandão dos Santos, M.Sc., Federal University of Viçosa, December 2023. **Induction of resistance to *Meloidogyne javanica* in tomato by rhizobacteria.** Advisor: Leandro Grassi de Freitas.

Phytonematodes are responsible for losses in several crops. In tomato cultivation, the species *Meloidogyne javanica* stands out as one of the species that causes the most damage to the crop. Considered challenging to manage due to being a soil-borne pathogen, the use of various control methods has been implemented, such as biological control. Acting through different mechanisms of action and growth and nutrition characteristics, antagonistic bacteria have been gaining increasing prominence in the market. Therefore, the objective of this work was to evaluate the potential of rhizobacteria isolates in degrading chitin, solubilizing phosphorus and potassium *in vitro*, evaluate reducing J2 penetration in tomato roots, evaluate capacity and inducing systemic resistance in tomato plants against the phytonematode *M. javanica*. The evaluations of chitin degradation and solubilization of phosphorus and potassium were carried out through *in vitro* tests in specific media for each test, and the formation of a halo around the bacterial colony was considered a positive result chitin degradation and solubilization of phosphorus and potassium in the test. In evaluating the reduction of infectivity, tomato seedlings were inoculated with a suspension of rhizobacteria, 5 days later, 300 juveniles of *M. javanica* were inoculated and 5 days after infestation, nematodes inside the roots were stained with acid fuchsin to allow observation of those that had penetrated. To evaluate the induction of resistance, the root systems of tomato seedlings were separated into two volumes without causing injury and buried in the soil of two different pots, positioned side by side, keeping the aerial part intact and common to the two new root systems. The treatments consisted of: 1) water (A) + nematode (B); 2) bacteria (A) + nematode (B); 3) water (A) + bacteria and nematode (B). 500 eggs of *M. javanica* and 4 mL of the bacterial suspension were inoculated. The plants were kept in a greenhouse for 45 days and the number of eggs produced and galls formed on each plant were counted. Isolates Mc-3, Cs-2 and Cs-12 were able to degrade chitin. Only the isolate Cs-2 showed a halo in the potassium test. None of the isolates formed a halo in the test with

phosphorus added to the medium. The tested isolates had no effect on j2 penetration. Regarding the systemic resistance induction test, the isolates Mc-3, Cs-2 and Cs-12 proved to be as efficient biological control agents when applied in a vessel different from where the nematodes were inoculated, as when they were applied in the same vessel of the nematodes, leading us to believe that the induction of systemic resistance, and not direct action on the eggs, was the nematode control mechanism.

Keywords: Biological control, root-knot nematode, PGPR, plant growth promotion.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1 Obtenção dos nematoides	12
2.2 Obtenção das rizobactérias.....	12
2.3 Degradação de Quitina	13
2.4 Solubilização de Fósforo	13
2.5 Solubilização de Potássio	14
2.6 Efeito das rizobactérias sobre a penetração de <i>M. javanica</i> em raízes de tomateiro	14
2.7 Indução de resistência em tomateiro por rizobactérias.....	15
2.8 Análise estatística	16
3.RESULTADOS	16
3.1 Degradação de Quitina	17
3.2 Solubilização de Fósforo e Potássio.....	17
3.3 Efeito de rizobactérias sobre a penetração de <i>M. javanica</i> em raízes de tomateiro	18
3.4 Indução de resistência em tomateiro por rizobactérias.....	19
4. DISCUSSÃO	23
5. CONCLUSÃO	26
6. REFERÊNCIAS.....	26

1. INTRODUÇÃO

Os fitonematoides são responsáveis por perdas em diversas culturas agrícolas, com prejuízos econômicos que podem ultrapassar os 80 bilhões de dólares ao ano (Ferraz e Brown, 2016). No caso do tomateiro, esse patógenos podem diminuir pelo menos 30% da produção em regiões tropicais, uma vez que a cultura pode ser parasitada por diferentes gêneros de fitonematoides, tais como *Meloidogyne*, *Rotylenchulus*, *Trichodorus* e *Paratrichodorus* (Naika et al., 2006; Pinheiro et al., 2014).

No Brasil, o gênero *Meloidogyne*, popularmente conhecido como o nematoide-das-galhas radiculares, é o maior responsável por prejuízos na cultura do tomateiro (Netscher, 1978), sendo as espécies mais relatadas *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* e *M. hapla*, com predominância das espécies *M. incognita* e *M. javanica* (Pinheiro et al., 2014). Essa predominância tem sido atribuída à capacidade dessas espécies se reproduzirem em uma ampla faixa de temperaturas, que varia de 18 a 31,5°C (Charchar e Moita, 2001).

O ciclo de vida do *M. javanica* ocorre por meio de seis estádios biológicos: ovo, quatro fases juvenis (J1, J2, J3 e J4) e adulto (fêmea). Na temperatura ideal, o ciclo dura em torno de 22 a 30 dias e, em condições adequadas, cada fêmea pode produzir cerca de 400 ovos, resultando em rápido aumento populacional do fitonematoide (Ferraz, 2001; Karssen Moens, 2006; Ferraz e Monteiro, 2011). Após penetrarem no sistema radicular das plantas, o nematoide libera proteínas em um conjunto de células do córtex vegetal, ocasionando diversas alterações fisiológicas, morfológicas e bioquímicas nos tecidos da raiz (Moslehi et al., 2021).

As células que passam por modificações devido à infecção de nematoides do gênero *Meloidogyne* são denominadas Células Gigantes, sofrendo hipertrofia como resultado da ação do parasita. Além das Células Gigantes, outras células do córtex radicular passam por hiperplasia, o que resulta na formação de galhas nas raízes, que é o sintoma visual mais óbvio causado pela infecção dos nematoides do gênero *Meloidogyne*. Essas modificações no sistema radicular da planta incluem uma desordem nos feixes vasculares, que causa redução na absorção de água e nutrientes, ocasionando os sintomas secundários, como plantas subdesenvolvidas,

amarelecimento foliar, com sistema radicular subdesenvolvido e, conseqüentemente, redução na produção e na qualidade dos frutos. Além disso, as plantas tornam-se mais vulnerável à ação de outros patógenos, principalmente de fungos e bactérias presentes no solo (Asmus, 2001).

Por se tratar de um patógeno habitante do solo, o recomendado é adotar o manejo integrado, que envolve a implementação de diferentes medidas de controle, a fim de reduzir a população do fitonematoide (Dias et al., 2010, Pinheiro et al., 2014). Entre as estratégias possíveis estão o uso da rotação de cultura, biofumigação, solarização do solo, o cultivo de variedades de plantas resistentes, o cultivo de plantas antagonistas e os controles biológico e químico (Antil et al., 2023).

Atualmente, a resistência utilizada no melhoramento genético do tomateiro é baseada no gene dominante *Mi-1.2*. Cultivares que portam esse gene podem ser cultivadas na maioria das áreas infestadas sem perda significativa de rendimento, conferindo resistência a populações e raças de *M. incognita*, *M. javanica* e *M. arenaria* (Rich e Olson, 1999; Sorribas et al., 2005). Entretanto, é importante pontuar que o gene *Mi* não é efetivo em temperaturas superior a 28 °C e não oferece resistência contra populações de *M. hapla* e contra alguns isolados virulentos de *M. incognita* e *M. javanica* (Boiteux et al., 2019).

O controle químico é outra prática amplamente empregada, mas a crescente preocupação com os efeitos da aplicação desses produtos no meio ambiente, na saúde humana e animal levou a restrições no uso desses produtos (Van der Putten et al. 2006). Esse cenário incentivou a busca por outros métodos, com destaque para o controle biológico de fitonematoides, que hoje já é amplamente utilizado na agricultura brasileira (Carneiro et al., 2020).

O controle biológico consiste na utilização de um organismo antagonista e não-patogênico para controlar um outro organismo, que é patogênico (Medeiros et al. 2018). Esse controle pode ser realizado por um ou mais organismos, desde que resulte na diminuição do inóculo ou das ações causadas por eles nas plantas (Cook e Baker, 1983). Os microrganismos mais estudados no controle biológico de fitonematoides incluem os fungos *Trichoderma* spp., *Purpureocillium lilacinum* e *Pochonia* spp., assim como as rizobactérias dos gêneros *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Pasteuria* (Martínez-Medina et al., 2017; Carneiro et al., 2020; Girardi et al, 2022).

Atualmente, as bactérias estão presente em diversos produtos registrados no Brasil para o controle de fitonematoides (MAPA, 2023). Isso pode ser explicado pela facilidade que esses microrganismos têm de utilizar diversas fontes de nutrientes, seu rápido crescimento, sobrevivência sob ampla faixa de temperatura e por apresentarem alta eficiência na redução da população de patógenos vegetais (Cook e Baker, 1983).

Juntamente com as características de cultivo apresentadas, as rizobactérias conseguem atuar por diferentes modos de ação, levando a uma redução na disponibilidade de espaço e nutrientes para o patógeno, desempenhando assim um importante papel na supressão de doenças de plantas no solo (Cook et al., 1995; Weller et al., 2002; Mariutto e Ongena, 2015). A supressão desses microrganismos pelas bactérias pode acontecer devido à produção de antibióticos, enzimas, sideróforos, competição por espaço e nutrientes, parasitismo e indução a resistência (Lugtenbere e Kamilova, 2009). Além disso, outra característica das rizobactérias é estimular o crescimento das plantas, o que pode ocorrer por meio da produção de hormônios ou pela solubilização e disponibilização de nutrientes para as plantas (Abdallah et al., 2018).

No controle de fitonematoides, as rizobactérias atuam tanto por meio de modos de ação diretos, como competição e antagonismo, bem como de forma indireta, na indução de resistência sistêmica (Carneiro et al., 2020). Como resultado da ação das rizobactérias na indução de resistência, estudos apontam a redução da penetração de juvenis e a diminuição da reprodução do parasita, o que restringe a circulação do nematoide nas raízes e conseqüentemente os danos nesses tecidos (Chaves et al., 2016; Puerari et al., 2019).

Com o intuito de potencializar a ação das bactérias antagonistas, ocorreu um aumento na procura por isolados com diferentes características. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de isolados de rizobactérias em degradar de quitina, solubilizar fósforo e potássio; seus efeitos sobre a penetração de *M. javanica* em raízes de tomateiro e eficiência na indução de resistência sistêmica em plantas de tomateiro.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle Biológico de Fitonematoides (BIONEMA) e na casa de vegetação do departamento de Fitopatologia (DFP) da Universidade Federal de Viçosa – *campus* Viçosa.

2.1 Obtenção dos nematoides

A população pura de *M. javanica* foi mantida em plantas suscetíveis de tomateiro da variedade Santa Cruz Kada em de casa de vegetação. Para obtenção dos ovos de *M. javanica*, as raízes de tomateiro infectadas foram processadas empregando a técnica de extração de ovos descrita por Hussey e Barker (1973) modificada por Boneti e Ferraz (1981). Para obtenção dos juvenis de segundo estágio (J2), ovos de *M. javanica* foram depositados em câmara de eclosão a 28 °C por 48h (Cliff e Hirschmann, 1985). A suspensão aquosa contendo os ovos ou J2 foi calibrada com auxílio da câmara de Peters.

2.2 Obtenção das rizobactérias

As bactérias utilizadas neste trabalho fazem parte da coleção do laboratório de Controle Biológico de Fitonematoides do Departamento de fitopatologia da Universidade Federal de Viçosa. Os isolados bacterianos usados neste estudo foram obtidos a partir de raízes de plantas antagonistas e estão descritos na Tabela 1. As bactérias foram cultivadas em meio de cultura líquido LB (Luria Broth), sob agitação de 180 rpm, a 28 °C, durante 48 h. Após, a suspensão bacteriana foi calibrada para 0,5 sob densidade ótica em 540 nm (OD₅₄₀), o equivalente a 10⁸ UFCs/mL, com auxílio de espectrofotômetro. A suspensão resultante foi empregada nos experimentos descritos a seguir.

Tabela 1. Isolados bacterianos utilizados nesse estudo.

Isolado	Gênero	Planta antagonista	Referência
Cs-12	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Crotalaria spectabilis</i>	
Mc-3	<i>Bacillus</i> sp.	<i>Mucuna pruriens</i>	Podestá, 2015
Cs-2	<i>Enterobacter</i> sp.	<i>C. spectabilis</i>	

2.3 Degradação de Quitina

O preparo da quitina coloidal, ocorreu misturando a cada 10g de quitina 100 ml de ácido fosfórico 85% e depositada em geladeira a 4°C por 24h. Após esse período, foram adicionados 2L de água destilada realizando a lavagem e filtragem da mistura, posteriormente a mistura foi deixada por 1 hora, a 50°C para secar e com o auxílio de um moinho ela foi triturada, chegando à textura de pó. Depois de obter a quitina coloidal, ocorreu o preparo do meio de cultura (6 g de fosfato dissódico (Na₂HPO₄), 3 g de fosfato de potássio dibásico anidro (K₂HPO₄), 1 g de cloreto de amônio (NH₄Cl), 0,5 g de cloreto de sódio (NaCl), 0,05 g de extrato de levedura, 15g de ágar e 10 g de quitina coloidal), sendo vertido em placa e a suspensão bacteriana foi depositada no centro da placa de Petri (Gadelhak et al., 2005). As placas foram incubadas a 28 °C por 48 h. Após o período de incubação, para observação do halo de degradação, as placas foram deixadas em temperatura ambiente e o meio de cultura foi coberto com 1 mL da solução iodeto de potássio-iodo (0,3% I₂ e 0,6% KI), deixando, em seguida, as placas no escuro por 5 minutos. A avaliação foi considerada positiva a degradação de quitina, ao observar a formação de um halo ao redor da colônia da bacteriana. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo cada tratamento replicado cinco vezes.

2.4 Solubilização de Fósforo

A suspensão bacteriana de cada isolado foi depositada no centro de placas de Petri contendo o meio NBRIP (*National Botanical Research Institute's phosphate*

growth medium) (glicose, 10 g/L; Ca₃(PO₄) 2,5 g/L; MgCl₂ 5 g/L; MgSO₄ 0,25 g/L; KCl, 0,2 g/L; (NH₄)₂SO₄, 0,1 g/L); ágar 15 g/L) e depois incubados por 48h a 28 °C. A formação de um halo transparente ao redor da colônia da bactéria foi considerada como evidência da capacidade de cada isolado solubilizar fosfato (Nautiyal, 1999). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo cada tratamento replicado cinco vezes.

2.5 Solubilização de Potássio

As bactérias foram depositadas no centro da placa de Petri contendo o meio de cultivo Aleksandrov (glicose 5 g/L; extrato de levedura 2 g/L; MgSO₄ 0,005 g/L; FeCl₃ 0,08 g/L; CaCO₃ 2 g/L; K (Bitota-Xisto, Fonolito ou KCl); 1,6 g/L e ágar 15 g/L), posteriormente as placas foram incubadas a 28°C por 48h. A formação de um halo ao redor da colônia bacteriana foi considerada uma evidência da capacidade do isolado bacteriano solubilizar o potássio (Aleksandrov, 1967; Hu et al., 2006). O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo cada tratamento replicado cinco vezes.

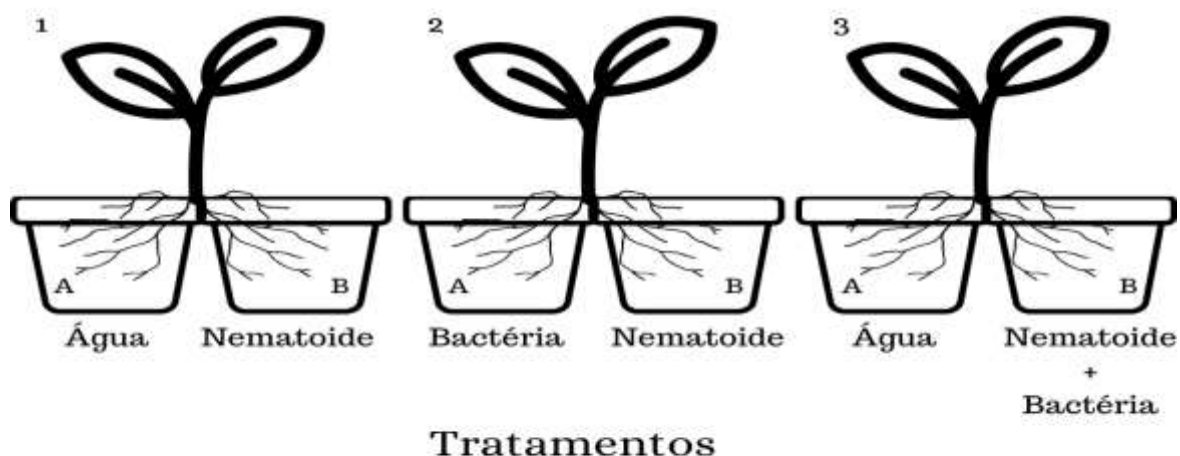
2.6 Efeito das rizobactérias sobre a penetração de *M. javanica* em raízes de tomateiro

Sementes de tomateiro da variedade Santa Cruz Kada foram semeadas em recipientes plásticos com capacidade para 80 mL, preenchidos com uma mistura de solo de barranco e substrato organomineral marca Tropstrato na proporção de 1:1 (v/v), previamente autoclavada, por 2 horas. Após as plântulas atingirem o primeiro par de folhas definitivas, foram adicionados ao solo em cada parcela 4 mL da suspensão bacteriana dos três isolados (Mc-3, Cs-2 e Cs-12) calibrada para OD₅₄₀=0,05. Cinco dias após a infestação do solo com as rizobactérias, todas as parcelas experimentais foram inoculadas com 300 juvenis de segundo estágio de *M. javanica*. Após 5 dias da inoculação, as raízes foram coletadas, cuidadosamente lavadas e submetidas ao processo para coloração dos nematoides com fucsina ácida,

segundo Bybd et al. (1983). Plantas inoculadas apenas com juvenis de *M. javanica* foram usadas como testemunha. Com o auxílio de microscópio de luz, foram quantificados os nematoides no sistema radicular. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, sendo cada tratamento replicado sete vezes.

2.7 Indução de resistência em tomateiro por rizobactérias

Utilizando o método de raiz bipartida (Longe, 1943; Medeiros et al., 2017), mudas de tomateiro cv. Santa Cruz Kada com 5 semanas após a semeadura, foram transplantadas para vasos plásticos com capacidade de 500 mL preenchidos com uma mistura de areia e solo de barranco na proporção 2:1 (v/v). As raízes foram divididas igualmente e transplantadas para vasos distintos. Os tratamentos consistiram em: 1) água (A) + nematoide (N); 2) bactéria (B) + nematoide (N); 3) água (A) + bactéria e nematoide (BN) (Figura 1). Foram inoculados 500 ovos de *M. javanica* e 4 mL da suspensão bacteriana ($OD_{540}=0,5$) contendo células bacterianas dos isolados Mc-3, Cs-2 ou Cs-12. As plantas foram mantidas em casa de vegetação durante 45 dias após a inoculação. As avaliações foram feitas por meio de contagem de galhas e do número de ovos de *M. javanica* por sistema radicular. O experimento foi conduzido em delineamento em blocos ao acaso, com oito repetições por tratamento, sendo realizado em dois ensaios, o primeiro nos meses de maio e junho com temperatura em torno de 22°C e o segundo nos meses de setembro e outubro com temperatura em torno de 32°C.



T1: (A) Mc-3 / (B) *Meloidogyne javanica*

T2: (A) água / (B) Mc-3+*M. javanica*

T3: (A) Cs-2 / (B) *M. javanica*

T4: (A) água / (B) Cs-2+*M. javanica*

T5: (A) Cs-12 / (B) *M. javanica*

T6: (A) água / (B) Cs-12+*M. javanica*

T7: (A) água / (B) *M. javanica*

Figura 1. Esquema do teste de indução de resistência utilizando o método de raiz bipartida. Os tratamentos consistiram em: 1) água (A) + nematóide (B); 2) bactéria (A) + nematóide (B); 3) água (A) + bactéria e nematóide (B).

2.8 Análise estatística

Todos os dados coletados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk ($\alpha > 0,05$) (Shapiro e Wilk, 1965), seguido, ao teste de variância (ANOVA). Posteriormente, os dados foram comparados pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade no software R (CRAN, 2023).

3.RESULTADOS

3.1 Degradação de Quitina

De acordo com o teste, todos os isolados estudados (Mc-3, Cs-2 e Cs-12) apresentaram capacidade de degradar a quitina, sendo evidenciado pelo halo em torno do crescimento bacteriano. (figura 2).

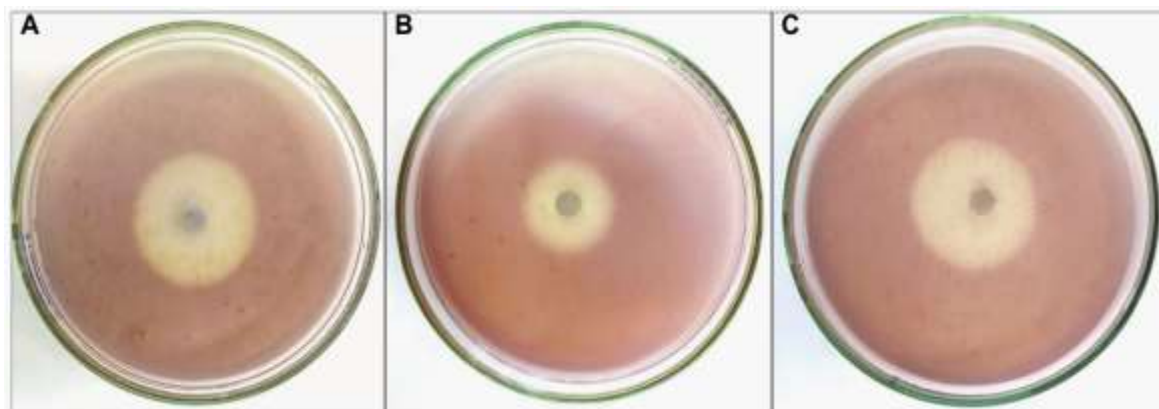


Figura 2. Degradação de quitina por isolados de rizobactérias em meio de cultura. Presença de halo confirma a capacidade da rizobactérias de degradar quitina. Mc-3 (A), C2s-2 (B) e Cs-12 (C).

3.2 Solubilização de Fósforo e Potássio

Em relação ao teste de solubilização de fósforo, nenhuma das rizobactérias apresentaram formação de halo ao redor do crescimento bacteriano (tabela 2). Quanto ao teste de solubilização de potássio, apenas o isolado Cs-2 apresentou a formação de halo em torno da colônia (Figura 3).

Tabela 2: Solubilização de fósforo e potássio por isolados de rizobactérias

BACTÉRIAS	NUTRIENTES	
	P	K
Mc-3	-*	-
Cs-2	-	+**
Cs-12	-	-

*Sinal (-) significa a não formação de halo ao redor da bactéria.

**Sinal (+) significa a formação de halo ao redor da bactéria.

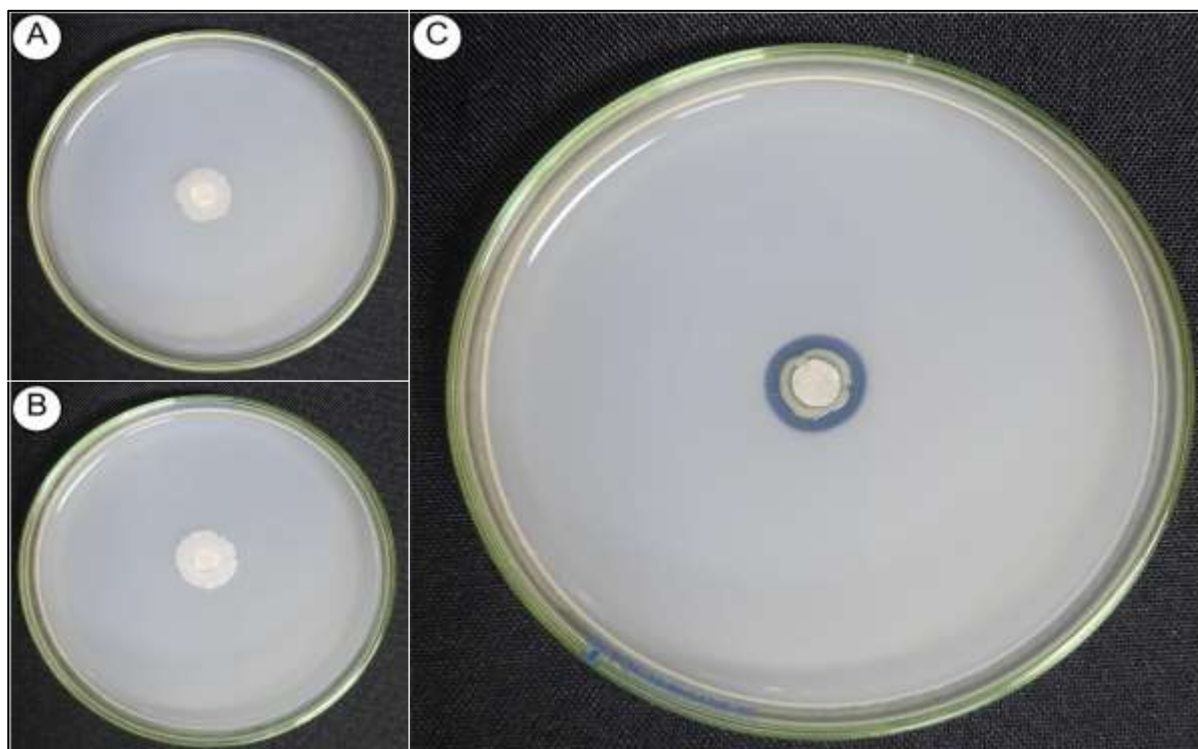


Figura 3: Solubilização de potássio por isolados de rizobactérias em meio de cultura. Presença de halo confirma a capacidade da rizobactérias solubilizar potássio. Mc-3 (A) Cs-12 (B) e C2s-2 (C).

3.3 Efeito de rizobactérias sobre a penetração de *M. javanica* em raízes de tomateiro

Após cinco dias da inoculação dos nematoides em plantas tratadas com as bactérias, constatou-se que os isolados Mc-3, Cs-2 e Cs-12 não foram capazes de evitar a penetração de J2 de *M. javanica* no sistema radicular de tomate (Figura 4).

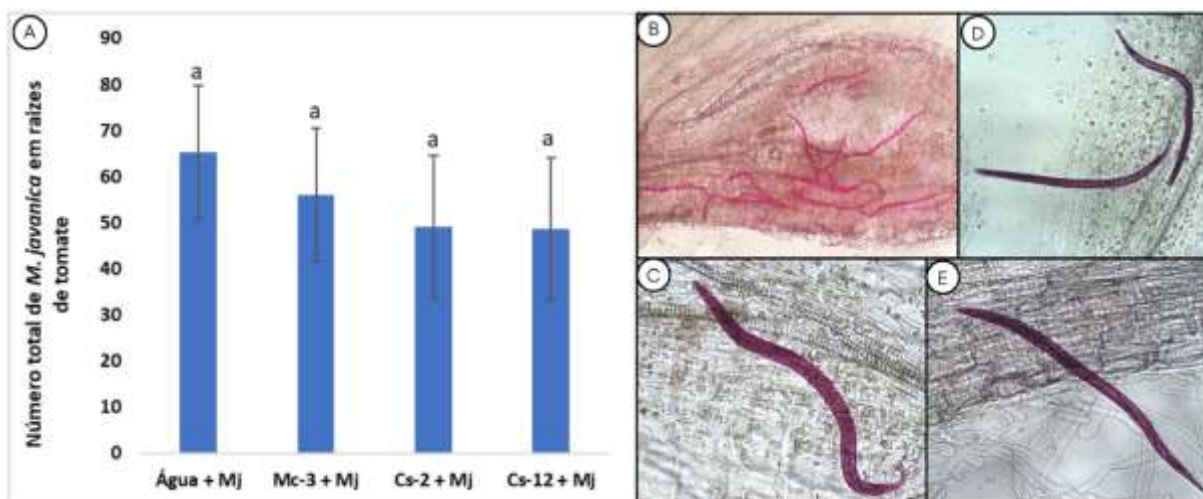


Figura 4: Número de juvenis de segundo estágio (J2) de *M. javanica* em raízes de tomateiro tratadas e não tratadas com as rizobactérias Mc-3, Cs-2 ou Cs-12. Número total de J2, 5 dias após a inoculação (A). Micrografias mostrando os J2, corados com fucsina ácida, dentro das raízes de tomateiro (B, C, D, E).

3.4 Indução de resistência em tomateiro por rizobactérias

Em ambos os ensaios, os isolados Mc-3, Cs-2 e Cs-12 foram capazes de reduzir significativamente a densidade populacional de *M. javanica* (Figura 5). Em relação ao isolado Mc-3 (Figura 5A), nos dois ensaios, os tratamentos diferiram da testemunha (Água/Mj). No experimento 1, houve uma redução do número de ovos por planta de 92,7% e 84,5% nos tratamentos Mc-3/Mj e Mc-3+Mj, respectivamente, diferindo-os entre si. Já no experimento 2, os tratamentos não diferiram entre si, com redução do número de ovos de 54,2 a 55,8% nos tratamentos Mc-3/Mj e Mc-3+Mj.

O isolado Cs-2 (Figura 5B), nos dois ensaios, os tratamentos não diferiram entre si, mas diferenciaram da testemunha (Água/Mj). Assim, no experimento 1, ocorreu redução de 84,5% no número de ovos por planta no tratamento Cs-2/Mj e 84,1% em Cs-2+Mj, enquanto no experimento 2 a redução foi de 55,3% em Cs-2/Mj e 58,3% em Cs-2+Mj.

Por fim, para o isolado Cs-12 (Figura 5C), os tratamentos diferiram da testemunha (Água/Mj), mas não entre si, comportamento que se repetiu em ambos os ensaios. No experimento 1, a redução de número de ovos por planta foi de 84,6% Cs-12/Mj e 84,3% Cs-12+Mj, enquanto no experimento 2 a redução foi 73,4% em Cs-12/Mj e 73,9% em Cs-12+Mj.

Quanto ao número de galhas por planta, ao avaliar o isolado Mc-3 (Figura 5D), nos dois ensaios, os tratamentos diferiram da testemunha (Água/Mj), mas não diferiram entre si. A redução no experimento 1 foi de 56,0% Mc-3/Mj e 46,5% Mc-3+Mj, enquanto no experimento 2 a redução encontrada foi de 51,0% Mc-3/Mj e 49,3% Mc-3+Mj.

Comportamento semelhante ocorreu com o isolado Cs-2 (figura 5 – E), pois nos dois ensaios, os tratamentos não diferiram entre si, mas diferenciaram da testemunha (Água/Mj). No experimento 1, ocorreu redução do número de galhas por planta de 26,7% Cs-2/Mj e 32,1% Cs-2+Mj, enquanto no experimento 2 a redução foi de 37,1% Cs-2/Mj e 37,6% Cs-2+Mj.

Para o isolado Cs-12 (Figura 5F), os tratamentos diferiram da testemunha (Água/Mj), mas não entre si, e o comportamento se repetiu em ambos os ensaios. No experimento 1, a redução de número de galhas por planta encontrado foi de 50,4% Cs-12/Mj e 44,8% Cs-12+Mj, enquanto no experimento 2 a redução foi 47,6% Cs-12/Mj e 42,8% Cs-12+Mj.

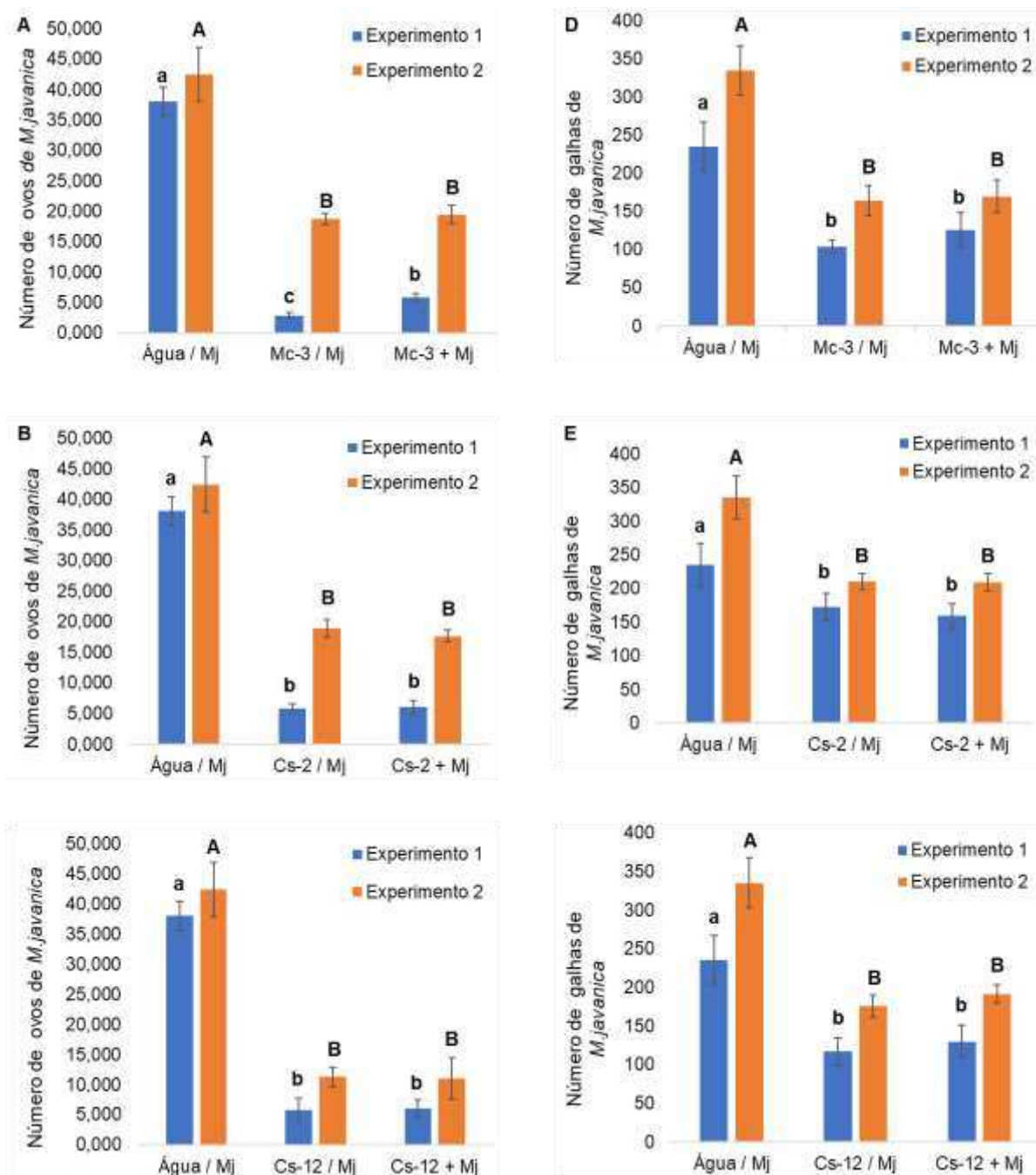


Figura 5: Efeitos de diferentes isolados de rizobactérias no ensaio de raiz bipartida, sobre *M. javanica* em raízes de tomate 45 dias após a inoculação. Em (A), (B) e (C) número de ovos de *M. javanica*. Em (D), (E) e (F) número de galhas de *M. javanica*. Em (A) e (D) inoculação do isolado Mc-3; (B) e (E) inoculação do isolado Cs-2; (C) e (F) inoculação do isolado Cs-12.

Ao comparar apenas os tratamentos nos quais a bactéria não teve contato direto com os nematoides (Figura 6A), na avaliação do número de ovos por planta, pode-se notar que todos os tratamentos diferiram da testemunha (Água/Mj). O tratamento Mc-3/Mj diferiu dos demais, apresentando uma redução de o número de

ovos em 92,71% no experimento 1. Por outro lado, no experimento 2, o tratamento Cs-12/Mj diferiu dos outros tratamentos, com redução de 73,4%.

Analisando a variável número de galhas por planta (Figura 6B), o comportamento foi o mesmo em ambos os experimentos. Todos os tratamentos diferiram da testemunha (Água/Mj). Os tratamentos Mc-3/Mj e Cs-12/Mj, em ambos os ensaios, não diferiram entre si, reduzindo de em 56,0% e 50,4%, respectivamente, no experimento 1 e no experimento 2 a redução encontrada foi 51,0% e 47,6%.

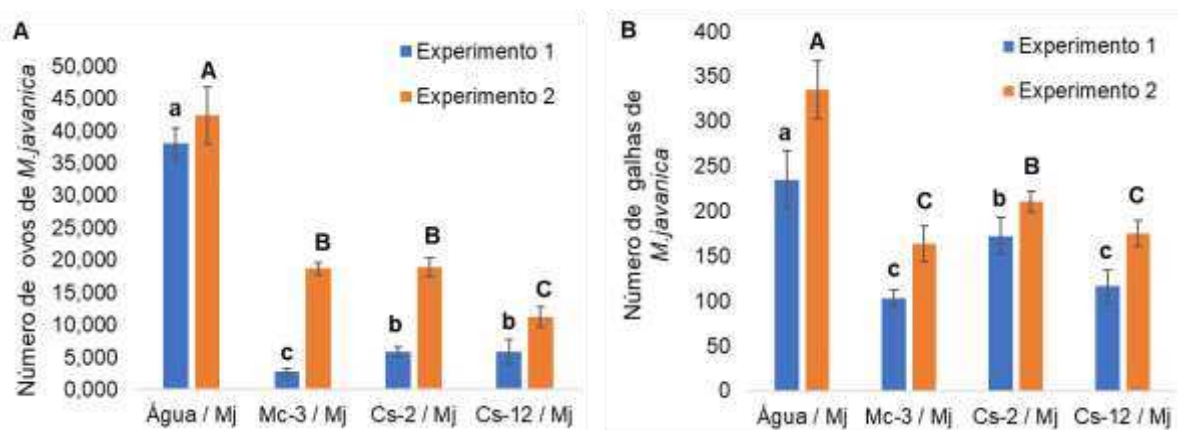


Figura 6: Efeito de indução de resistência de isolados de rizobactérias observado em ensaio de raiz bipartida, sobre *M. javanica* em raízes de tomateiro aos 45 dias após a inoculação. (A) Efeito sobre o número de ovos e (B) sobre o número de galhas de *M. javanica*. Mc-3= isolado Mc-3 de *Bacillus* sp., Cs-2= isolado Cs-2 de *Bacillus* sp. e Cs12= isolado Cs12 de *Enterobacter* sp.

Ao comparar somente os tratamentos com separação e sem separação espacial entre nematoides e bactérias, para cada isolado bacteriano (Tabela 3), observou-se que nos tratamentos Mc-3 / Mj e Mc-3 + Mj, houve diferença quanto a variável número de ovos por planta no experimento 1, enquanto no experimento 2 não houve diferença significativa entre os tratamentos. Na avaliação do número de galhas por plantas, não houve diferença nos tratamentos Mc-3/ Mj e Mc-3 + Mj nos dois ensaios. Comparando os tratamentos Cs-2 / Mj e Cs-2 + Mj, tanto para número de ovos por planta e número de galhas por plantas, não ocorreu diferença entre eles nos dois experimentos realizados. O mesmo ocorreu com os tratamentos Cs-12 / Mj e Cs-12 + Mj, os resultados não diferem entre si, nos experimentos 1 e 2, para as duas variáveis testadas, número de ovos por planta e número de galhas por plantas.

Tabela 3: Identificação de mecanismo de ação usados pelas bactérias.

Tratamentos	Ovos		Galhas	
	Experimento 1	Experimento2	Experimento 1	Experimento2
Mc-3 / Mj	2,77*	18,75 ^{ns}	103,50 ^{ns}	164,13 ^{ns}
Mc-3 + Mj	5,87	19,43	125,75	170,00

Tratamentos	Ovos		Galhas	
	Experimento 1	Experimento2	Experimento 1	Experimento2
Cs-2 / Mj	5,89 ^{ns}	18,96 ^{ns}	172,50 ^{ns}	210,75 ^{ns}
Cs-2 + Mj	6,04	17,68	159,63	209,00

Tratamentos	Ovos		Galhas	
	Experimento 1	Experimento2	Experimento 1	Experimento2
Cs-12 / Mj	5,85 ^{ns}	11,27 ^{ns}	116,75 ^{ns}	175,50 ^{ns}
Cs-12 + Mj	5,98	11,07	129,88	191,63

Médias foram comparadas pelo teste T de Student.

Medias apresentando (*) na mesma coluna e para cada isolado bacteriano diferem significativamente entre si ao nível de 5% de probabilidade. Medias apresentando (^{ns}) na mesma coluna e para cada

4. DISCUSSÃO

As rizobactérias Mc-3, Cs-2 e Cs-12 se mostraram eficientes no controle biológico de *M. javanica*. O experimento 1 foi realizado nos meses de maio e junho, quando a temperatura estava mais amena, cerca de 22 °C, permitindo maior eficácia do isolado Mc-3. O experimento 2, realizado nos meses de setembro e outubro, ocorreu com a temperatura média em torno de 32 °C, e podemos observar maior eficiência de controle com o isolado Cs-12. Outra informação importante a ser ressaltada é que os dois isolados de destaque, pertencem ao gênero *Bacillus* e assim como este trabalho, diversos estudos têm evidenciado o potencial antagônico do gênero, no controle de espécies de *Meloidogyne* spp. (Adão et al., 2014; Xiang et al., 2017; Li et al., 2019).

As espécies do gênero *Bacillus* spp. destacam-se em relação a outros potenciais agentes de biocontrole devido a sua capacidade de formar esporos, os

quais apresentam tolerância tanto a temperaturas mais elevadas, quanto a condições extremas de pH, exposição a produtos químicos e ao tempo de armazenamento. Essas vantagens permitem a utilização desse microrganismo na formulação de produtos mais estáveis e viáveis (Backman et al., 1997).

Em estudos de interação de microrganismos, é essencial considerar as características do patógeno estudado. No caso de *M. javanica*, já é conhecido que em temperaturas mais baixas, o ciclo do nematoide se estende, proporcionando maior efeito de agentes antagonistas (El-Saadony et al. 2021), como observado no presente estudo. Em contrapartida, em altas temperaturas o tempo necessário para o desenvolvimento embrionário completo dos nematoides é reduzido, permitindo aos J2 eclodirem do ovo e penetrar nas raízes conseguindo reduzir seu ciclo e diminuindo o efeito dos isolados nas variáveis estudadas (Charchar e Moita, 2001; Monteiro et al., 2017). Entretanto, apesar da influência da temperatura no ciclo do *M. javanica*, os resultados apresentados reforçam a eficácia dos isolados, visto que os experimentos foram montados em meses e temperaturas diferentes, os tratamentos contendo as rizobactérias diferiram da testemunha nos dois ensaios, reforçando a capacidade antagonista dos isolados estudados. Esses resultados indicam que a eficácia das rizobactérias no controle de *M. javanica* pode variar de acordo com as condições ambientais, e como observada nesse estudo, a temperatura é um fator importante de ser analisada na escolha do isolado, permitindo assim uma maior eficiência no controle.

Por meio do método de raiz bipartida foi possível observar para cada bactéria que, em geral, o nível de controle sobre o nematoide foi o mesmo nas situações de aplicação da bactéria sobre os nematoides no mesmo vaso e de aplicação em vasos diferentes, isto é, o modo de ação dos três isolados bacterianos foi exclusivamente pela indução de resistência sistêmica (ISR), pois não houve controle adicional pelo contato entre bactéria e nematoide, isto é, provavelmente o controle não se deu por produção de toxinas.

A ISR é um mecanismo desencadeado por microrganismos benéficos, que utilizam de diferentes vias, como a do ácido jasmônico (JA) e etileno (ET) fazendo com que a planta ative seus mecanismos de defesa de forma mais rápida e eficiente, resistindo a ação de patógenos (Beneduzi et al. 2012; Yu et al., 2022). Essa ativação

pode envolver a produção de moléculas sinalizadoras, a expressão de genes relacionados à resistência e a ativação de vias metabólicas que fortalecem a capacidade da planta de resistir ao patógeno (Pokhare et al. 2012; Khanna et al. 2019; Mohammadi et al. 2020).

Os resultados apresentados neste trabalho corroboram com outros estudos que destacam a eficácia do controle ao ativar os mecanismos de defesa da planta. Pesquisas conduzidas por Jiang et al. (2020) utilizando *Arabidopsis*, por exemplo, demonstrou que a espécie *B. cereus* foi capaz de reduzir significativamente as populações de *M. incognita* e *M. javanica*. O fungo *Trichoderma harzianum* e *T. atroviride*, em sistema de raiz bipartida, reduziu o número de galhas induzidas por *M. javanica* em tomateiro (Medeiros et al., 2017).

Os isolados Mc-3, Cs-2 e Cs-12 não foram capazes de impedir ou reduzir significativamente a penetração dos juvenis de segundo estágio nas raízes. Gourd et al. (1993) relacionaram o aumento da penetração de J2 de *M. javanica*, *M. incognita* e *M. arenaria* à temperatura acima de 25 °C em raízes de soja. Por outro lado, foi constatado que os três isolados bacterianos foram capazes de degradar quitina, comprovado em teste *in vitro*. Ovos de nematoides, possuem quitina em sua casca, logo, isolados que possuem a enzima quitinase são importantes no processo de rompimento da casca (Bird & McClure, 1976). A aplicação simultânea das rizobactérias e dos ovos ao redor do sistema radicular talvez não tenha permitido que as bactérias tivessem tempo suficiente para colonizar o sistema radicular do tomateiro e aumentar sua população ao ponto de produzir quantidade da enzima quitinase suficiente para degradar os ovos antes dos juvenis eclodirem e penetrarem as raízes.

Testes *in vitro* evidenciaram que os isolados Mc-3, Cs-2 e Cs-12 não foram capazes de solubilizar fósforo, que é um importante nutriente e geralmente não está na forma disponível para a planta no solo. A capacidade de solubilização de fósforos por microrganismos serve como indicativo de que eles conseguem promover o crescimento das plantas (Aioub et al., 2022). Diversos gêneros de rizobactérias, incluindo *Bacillus* e *Enterobacter*, têm capacidade de solubilizar fósforo (Kim, 2018 e Raj et al. 2014). Um estudo mostrou que *B. firmus* foi capaz de solubilizar fósforo e reduzir populações de *M. incognita* em raízes de tomateiro (Terefe et al. 2009).

Outro ensaio foi conduzido para avaliar a capacidade de solubilização de potássio, elemento importante em processos fisiológicos da planta (Hasanuzzaman et al. 2018). No presente trabalho, o isolado Cs-2, foi capaz de solubilizar potássio. As bactérias que possuem essa capacidade, solubilizam o potássio insolúvel, e assim as plantas conseguem absorver o nutriente (Wang et al. 2020).

5. CONCLUSÃO

Os isolados Mc-3, Cs-2 e Cs-12 são agentes eficientes de controle biológico do *M. javanica* em tomate, atuando principalmente por meio da indução de resistência sistêmica. Além disso, os isolados Mc-3, Cs-2 e Cs-12 são capazes de degradar quitina e o isolado Cs-2 é capaz de solubilizar potássio, porém não foram capazes de solubilizar fósforo. Os isolados estudados não são capazes de impedir ou reduzir significativamente a penetração de *M. javanica* em raízes de tomateiro.

6. REFERÊNCIAS

Aioub, A. A., Elesawy, A. E., & Ammar, E. E. (2022). 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*, 129(6), 1305-1321. Doi:10.1007/s41348-022-00642-3

Abdallah, R. A. B., Jabnoun-Khiareddine, H., Nefzi, A., Fakher, A. Y. E. D., & Daami-Remadi, M. (2019). Field suppression of Fusarium wilt and microbial population Shifts in tomato rhizosphere following soil treatment with two selected endophytic bacteria. *Eurasian Journal of Soil Science*, 8(3), 208-220. doi:10.18393/ejss.556780

Aleksandrov, V. G., e Il'ev, I. P. (1967). Phosphorus acid isolation from apatite produced by silicate bacteria. *Mikrobiologichnyi zhurnal*, 29(2), 111-114.

Ambo, P. B. N., Ethiopia, E. A., Serfoji, P., Rajeshkumar, S., & Selvaraj, T. (2010). Management of root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* on tomato cv Pusa Ruby. by using vermicompost, AM fungus, *Glomus aggregatum* and mycorrhiza helper bacterium, *Bacillus coagulans*. *J. Agric. Sci. Technol*, 6, 37-45.

Antil, S., Kumar, R., Pathak, D. V., & Kumari, A. (2023). Recent advances in utilizing bacteria as biocontrol agents against plant parasitic nematodes emphasizing *Meloidogyne* spp. *Biological Control*, 105244. doi:10.1016/j.biocontrol.2023.105244

Asmus, G. L. (2001). Danos causados à cultura da soja por nematoides do gênero *Meloidogyne*. *Relações parasito-hospedeiro nas meloidoginoses da soja*. Londrina: Embrapa Soja, 39-62.

Backman, P. A., Wilson, M., & Murphy, J. F. (2018). Bacteria for biological control of plant diseases. In *Environmentally safe approaches to crop disease control* (pp. 94-110). CRC Press.

Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and molecular biology*, 35, 1044-1051. doi:10.1590/S1415-47572012000600020

Bird, A. F., & McClure, M. A. (1976). The tylenchid (Nematoda) egg shell: structure, composition and permeability. *Parasitology*, 72(1), 19-28. doi:10.1017/S0031182000043158

Boiteux, L. S., Pinheiro, J. B., & de Noronha Fonseca, M. E. (2019). Manejo de nematoides do gênero *Meloidogyne* no cultivo do tomateiro via resistência genética: Avanços, obstáculos e perspectivas.

Boneti, J. I. S., & Ferraz, S. (1981). Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exigua* de raízes de cafeeiro. *Fitopatologia Brasileira*, 6(3), 553.

Bybd Jr, D. W., Kirkpatrick, T., & Barker, K. (1983). An improved technique for clearing and staining plant tissues for detection of nematodes. *Journal of nematology*, 15(1), 142.

Carneiro, R. M. D. G., Monteiro, T. S. A, Eckstein, B., & Freitas L. G. (2020) Controle de nematoides fitoparasitas. In: FONTES, E. M. G.; VALADARES-INGLIS, M. C. Controle biológicos de pragas na agricultura, Brasília, Embrapa. 12, 371-411.

Charchar, J. M., & Moita, A. W. (2001). Resistência de genótipos de batata a *Meloidogyne javanica*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 36, 535-540. Doi:10.1590/S0100-204X2001000300019

Chaves, A., Pedrosa, E. R., Willadino, L., & Cardoso, M. S. D. O. (2016). Activation of resistance to *Meloidogyne incognita* in sugarcane treated with pyraclostrobin. *Nematoda*, 3(1), 0-0. Doi:10.4322/nematoda.00516

Cliff, G. M., & Hirschmann, H. (1985). Evaluation of morphological variability in *Meloidogyne arenaria*. *Journal of Nematology*, 17(4), 445.

Cook, R. J., & Baker, K. F. (1983). The nature and practice of biological control of plant pathogens. *American Phytopathological Society*.

Cook, R. J., Thomashow, L. S., Weller, D. M., Fujimoto, D., Mazzola, M., Banger, G., & Kim, D. S. (1995). Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(10), 4197-4201. Doi:10.1073/pnas.92.10.4197.

CRAN. R-4.3.1 for Windows. Disponível em: < <https://cran.r-project.org/bin/windows/base/>>. Acesso em: 11 set. 2023.

Dias, W. P., Garcia, A., Silva, J. F. V., & Carneiro, G. D. S. (2010). Nematóides em soja: identificação e controle.

El-Saadony, M. T., Abuljadayel, D. A., Shafi, M. E., Albaqami, N. M., Desoky, E. S. M., El-Tahan, A. M., ... & Saad, A. M. (2021). Control of foliar phytoparasitic nematodes through sustainable natural materials: Current progress and challenges. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(12), 7314-7326. doi:10.1016/j.sjbs.2021.08.035

FERRAZ, L., & BROWN, D. (2016). *Nematologia de plantas: fundamentos e importância* (Orgs). Manaus, AM: Norma Editora, 287-293.

Gadelhak, G. G., El-Tarabily, K. A., & Al-Kaabi, F. K. (2005). Insect control using chitinolytic soil actinomycetes as biocontrol agents. *Int J Agric Biol*, 7(4), 627-633.

Girardi, N. S., Sosa, A. L., Etcheverry, M. G., & Passone, M. A. (2022). In vitro characterization bioassays of the nematophagous fungus *Purpureocillium lilacinum*: Evaluation on growth, extracellular enzymes, mycotoxins and survival in the

surrounding agroecosystem of tomato. *Fungal Biology*, 126(4), 300-307. Doi:10.1016/j.funbio.2022.02.001

Gourd, T. R., Schmitt, D. P., & Barker, K. R. (1993). Penetration rates by second-stage juveniles of *Meloidogyne* spp. and *Heterodera glycines* into soybean roots. *Journal of Nematology*, 25(1), 38.

Hasanuzzaman, M., Bhuyan, M. B., Nahar, K., Hossain, M. S., Mahmud, J. A., Hossen, M. S., ... & Fujita, M. (2018). Potassium: A vital regulator of plant responses and tolerance to abiotic stresses. *Agronomy*, 8(3), 31. Doi:10.3390/agronomy8030031

Hu, X., Chen, J., & Guo, J. (2006). Two phosphate-and potassium-solubilizing bacteria isolated from Tianmu Mountain, Zhejiang, China. *World journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(9), 983-990. Doi:10.1007/s11274-006-9144-2

Hussey, R. S.; Barker, K. R. (2000). A comparison of methods collecting inocula of juveniles of *Heterodera glycines*. *Journal of Nematology*, 32(1), 117.

Jiang, C., Fan, Z., Li, Z., Niu, D., Li, Y., Zheng, M., ... & Guo, J. (2020). *Bacillus cereus* AR156 triggers induced systemic resistance against *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 by suppressing miR472 and activating CNLs-mediated basal immunity in *Arabidopsis*. *Molecular plant pathology*, 21(6), 854-870. Doi:10.1111/mpp.12935

Khanna, K., Jamwal, V. L., Sharma, A., Gandhi, S. G., Ohri, P., Bhardwaj, R., ... & Ahmad, P. (2019). Evaluation of the role of rhizobacteria in controlling root-knot nematode infection in *Lycopersicon esculentum* plants by modulation in the secondary metabolite profiles. *AoB Plants*, 11(6), plz069. Doi:10.1093/aobpla/plz069

Kim, K. Y., Jordan, D., & McDonald, G. A. (1998). *Enterobacter agglomerans*, phosphate solubilizing bacteria, and microbial activity in soil: effect of carbon sources. *Soil biology and biochemistry*, 30(8-9), 995-1003. Doi:10.1016/S0038-0717(98)00007-8

Li, X., Hu, H. J., Li, J. Y., Wang, C., Chen, S. L., & Yan, S. Z. (2019). Effects of the endophytic bacteria *Bacillus cereus* BCM2 on tomato root exudates and *Meloidogyne incognita* infection. *Plant disease*, 103(7), 1551-1558. Doi.org/10.1094/PDIS-11-18-2016-RE

Long, E. M. (1943). The effect of salt additions to the substrate on intake of water and nutrients by roots of approach-grafted tomato plants. *American journal of botany*.

Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annual review of microbiology*, 63, 541-556. Doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918

MAPA. Produtos Fitossanitários com uso Aprovado para a Agricultura Orgânica Registrados. Brasília, DF, 2023. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons> Acesso em: 28 setembro 2023.

Mariutto, M., & Ongena, M. (2015). Molecular patterns of rhizobacteria involved in plant immunity elicitation. *Advances in Botanical Research*, 75, 21-56. Doi:10.1016/bs.abr.2015.07.002

Martínez-Medina, A., Fernandez, I., Lok, G. B., Pozo, M. J., Pieterse, C. M., & Van Wees, S. C. (2017). Shifting from priming of salicylic acid-to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. *New phytologist*, 213(3), 1363-1377. Doi:10.1111/nph.14251

Medeiros, F. H. V. D., Silva, J. C. P. D., & Pascholati, S. F. (2018). Controle biológico de doenças de plantas. *Manual de Fitopatologia: princípios e conceitos*, 1.

Medeiros, H. A. D., Araújo Filho, J. V. D., Freitas, L. G. D., Castillo, P., Rubio, M. B., Hermosa, R., & Monte, E. (2017). Tomato progeny inherit resistance to the nematode *Meloidogyne javanica* linked to plant growth induced by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. *Scientific reports*, 7(1), 40216. Doi:10.1038/srep40216.

Mohammadi, M. A., Han, X., Zhang, Z., Xi, Y., Boorboori, M., & Wang-Pruski, G. (2020). Phosphite application alleviates *Pythophthora infestans* by modulation of photosynthetic and physio-biochemical metabolites in potato leaves. *Pathogens*, 9(3), 170. Doi: 10.3390/pathogens9030170

Avelar Monteiro, T. S., Lopes, E. A., Evans, H. C., & Grassi de Freitas, L. (2017). Interactions between *Pochonia chlamydosporia* and nematodes. *Perspectives in sustainable nematode management through Pochonia chlamydosporia applications for root and rhizosphere health*, 77-96. Doi:10.1007/978-3-319-59224-4_4

Naika, S., Dam, B. V., Goffau, M. D., & Lidth de Jeude, J. V. (2006). A cultura do tomate: produção, processamento e comercialização. *Agrodok*. 17, 104.

Nautiyal, C. S. (1999). An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms. *FEMS microbiology Letters*, 170(1), 265-270.

Netscher, C. (1978). Morphological and physiological variability of species of *Meloidogyne* in West Africa and implications for their control. *Meded. Landbomhogeschool, Wageningen*, 46 (4), 78-83.

Pinheiro, J. B., Boiteux, L. S., Pereira, R. B., Almeida, M. R. A., & Carneiro, R. M. G. (2014). Identificação de espécies de *Meloidogyne* em tomateiro no Brasil.

Podestá, G. S. (2015). Interação entre *Pochonia chlamydosporia* e rizobactérias no controle de *Meloidogyne javanica*. 2015. Tese (Doutorado em Fitopatologia), Universidade Federal de Viçosa.

Puerari, H. H., Miamoto, A., Jardimetti, V. A., Schwan-Estrada, K. R. F., & Dias-Arieira, C. R. (2019). Enzymatic activity induced by acibenzolar-S-methyl for control of *Pratylenchus brachyurus* in maize. *J Plant Physiol Pathol*, 7, 3.

Raj, D. P. R. S., Linda, R., & Babyson, R. S. (2014). Molecular characterization of phosphate solubilizing bacteria (PSB) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) from pristine soils. *Int J Innov Sci Eng Technol*, 1, 317-324.

Rich, J. R., & Olson, S. M. (1999). Utility of Mi gene resistance in tomato to manage *Meloidogyne javanica* in North Florida. *Journal of Nematology*, 31(4S), 715.

Sorribas, F. J., Ornat, C., Verdejo-Lucas, S., Galeano, M., & Valero, J. (2005). Effectiveness and profitability of the Mi-resistant tomatoes to control root-knot nematodes. *European Journal of Plant Pathology*, 111, 29-38. Doi:10.1007/s10658-004-1982-x

Terefe, M., Tefera, T., & Sakhuja, P. K. (2009). Effect of a formulation of *Bacillus firmus* on root-knot nematode *Meloidogyne incognita* infestation and the growth of tomato plants in the greenhouse and nursery. *Journal of invertebrate pathology*, 100(2), 94-99. Doi: 10.1016/j.jip.2008.11.004

Van der Putten, W. H., Cook, R., Costa, S., Davies, K. G., Fargette, M., Freitas, H., & van der Wurff, A. W. (2006). Nematode interactions in nature: models for sustainable control of nematode pests of crop plants?. *Advances in Agronomy*, 89, 227-260. Doi:10.1016/S0065-2113(05)89005-4

Wang, J., Li, R., Zhang, H., Wei, G., & Li, Z. (2020). Beneficial bacteria activate nutrients and promote wheat growth under conditions of reduced fertilizer application. *BMC microbiology*, 20, 1-12. Doi:10.1186/s12866-020-1708-z

Weller, D. M., Raaijmakers, J. M., Gardener, B. B. M., & Thomashow, L. S. (2002). Microbial populations responsible for specific soil suppressiveness to plant pathogens. *Annual review of phytopathology*, 40(1), 309-348.

Xiang, N., Lawrence, K. S., & Donald, P. A. (2018). Biological control potential of plant growth-promoting rhizobacteria suppression of *Meloidogyne incognita* on cotton and *Heterodera glycines* on soybean: A review. *Journal of Phytopathology*, 166(7-8), 449-458. Doi:10.1111/jph.12712

Yu, Y., Gui, Y., Li, Z., Jiang, C., Guo, J., & Niu, D. (2022). Induced systemic resistance for improving plant immunity by beneficial microbes. *Plants*, 11(3), 386. Doi:10.3390/plants11030386