

Bionematicidas contemporâneos: aplicabilidade e importância no manejo de fitonematoides em áreas agrícolas

Inorbert de Melo Lima¹; José Aires Ventura²; Hércio Costa³; Bruna da Silva Arpini⁴; Marlon Vagner Valetim Martins⁵

Resumo - O agronegócio moderno é dinâmico, e a pressão da sociedade no sentido de substituir os nematicidas químicos, altamente tóxicos, por produtos ecologicamente mais sustentáveis tem incentivado a busca de alternativas promissoras no manejo de fitonematoides, menos agressivas ao meio ambiente e ao homem. Os bionematicidas (compostos principalmente por microrganismos) são produtos que vêm sendo considerados como uma das melhores medidas de controle de fitonematoides, dentro de uma abordagem da gestão do manejo integrado, como uma importante ferramenta para assegurar o desenvolvimento sustentável da agricultura. Hoje a tendência mundial nos casos em que há necessidade de controlar os fitonematoides é o uso de produtos à base de microrganismos e adota-se o termo gerenciamento microbiológico do solo e não somente manejo de nematoides, por entender e compreender o papel dos fitonematoides no sistema e a sua coexistência com a microbiota do solo. Esses agentes de biocontrole podem atuar sobre diferentes fases da vida dos fitonematoides, como as fases dentro do ovo, fases móveis no solo ou no interior das raízes. Os fungos e as bactérias são os microrganismos prioritariamente selecionados como agentes de biocontrole de fitonematoides, estando já disponíveis no mercado brasileiro bionematicidas que apresentam grande potencial para o desenvolvimento de estratégias promissoras no controle integrado das populações de nematoides fitoparasitas em áreas agrícolas do país e do mundo.

Palavras-chaves: Controle biológico. Solo. Microrganismos. Fitopatologia. Gestão microbiológica.

Contemporary bionematicides: applicability and importance in the management of plant parasitic nematodes in agricultural areas

Abstract - Modern agribusiness is dynamic and society's pressure to replace chemical nematicides, which are highly toxic, with environmentally sustainable products has encouraged the search for promising alternatives in the management of phytonematoids less aggressive to the environment and to men. Bionematicides are products of biological origin (mainly with the use of microorganisms) which have been considered as one of the best phytonematoids control alternatives, within an integrated approach to technology management, as an important tool to ensure the sustainable development of agriculture. Today the worldwide trend in which nematodes need to be controlled is the use of microorganism-based products. The term soil microbiological management and not just nematode management is adopted due to the role of phytonematoids in the system and their coexistence with the soil microbiota. These biocontrol agents can act on different phases of phytonematoids' life, such as the phases within the egg, mobile phases in the soil, or within the roots. Fungi and bacteria are the microorganisms primarily selected as bionematicides. They are already available in the Brazilian market and have great potential for the development of promising strategies for integrated control of phytoparasite nematode populations in agricultural areas in Brazil and worldwide.

Keywords: Biological control. Soil. Microorganisms. Plant pathology. Microbial management.

¹ Engenheiro Agrônomo, D.Sc. Fitopatologia, Pesquisador do Incaper, inorbert@incaper.es.gov.br

² Engenheiro Agrônomo, D.Sc. Fitopatologia, Pesquisador do Incaper

³ Engenheiro Agrônomo, D.Sc. Fitopatologia, Pesquisador do Incaper

⁴ Bióloga, Bolsista Nível Superior Fapes/Incaper

⁵ Engenheiro Agrônomo, D.Sc. Produção Vegetal/Fitossanidade, Pesquisador Embrapa Agroindústria Tropical

INTRODUÇÃO

Os fitonematoides causam perdas nas principais culturas de importância econômica ou de subsistência em todos os continentes. Em escala global, estima-se que os prejuízos decorrentes da ação desses organismos parasitas de plantas sejam calculados entre 78 bilhões e 125 bilhões de dólares (LOPES; FERRAZ, 2016). Apesar da expressividade desses valores, Sikora et al. (2018) destacam que o impacto negativo que os nematoides parasitas de plantas provocam na produção agrícola nos trópicos ainda é subestimado.

Para reduzir o impacto econômico em toda a cadeia produtiva, o uso de nematicidas químicos sempre correspondeu por décadas a uma das medidas mais utilizadas no controle de fitonematoides, e os princípios ativos desses nematicidas são considerados como extremamente tóxicos, sendo evitados em um número cada vez maior de países em função de contaminação de solo, eliminação da microbiota benéfica e do desenvolvimento de populações de nematoides resistentes (KHALIL, 2013).

A pressão da sociedade no sentido de substituir os nematicidas químicos por produtos ou técnicas ecologicamente mais sustentáveis tem incentivado a busca de alternativas promissoras no manejo de fitonematoides (FERRAZ; SANTOS, 1995). Nesse contexto, o controle biológico (uso de microrganismos) vem sendo considerado uma das melhores alternativas dentro de uma abordagem integrada como uma importante ferramenta para assegurar o desenvolvimento sustentável da agricultura. Há mais de 30 anos, já havia evidências do potencial e das perspectivas de uso dos microrganismos na gestão microbiológica do solo (STIRLING, 1991; DUNCAN, 1991).

GESTÃO DA MICROBIOTA DO SOLO

NEMATOIDES

Os nematoides colonizam com sucesso uma imensa variedade de *habitat*. Muitas espécies são de vida livre, alimentando-se de bactérias ou fungos, enquanto outras são predadoras ou possuem hábitos parasitas (MOURA; FRANZENER, 2017).

No caso dos nematoides parasitas de plantas, comumente referidos como fitonematoides, são principalmente organismos do solo que parasitam raízes de plantas para se alimentar e se multiplicar. Suas estruturas de resistência (ovos/cistos) ficam armazenadas no solo, durante a ausência de hospedeiro suscetível e a simples erradicação da planta infectada não garante a diminuição da sua população no solo e a eliminação do nematoide.

Considerando a ecologia dos nematoides, é importante destacar que o manejo é dependente das características do solo, da fisiologia e estágio fenológico da espécie vegetal e da particularidade de cada espécie. Tudo isso é condicionante ao sucesso do manejo, o qual pode ser abordado com algum método químico ou biológico.

No caso dos bionematicidas, destaca-se que o uso de microrganismos para manejo de fitonematoides está também limitado a uma região externa à planta, próxima às raízes e que corresponde à fase exofítica do parasitismo (Figura 1). O modo de ação dos microrganismos selecionados como bionematicidas é basicamente nos ovos e nas fases infectivas dos nematoides, desde que estes estejam externos às raízes.

A casca dos ovos dos fitonematoides é constituída por três camadas: uma lipídica interna, uma intermediária de quitina e uma vitelina externa. A camada externa e a intermediária são responsáveis por proporcionar força estrutural e impermeabilidade dos ovos, respectivamente. Uma vez que a camada vitelina e a de quitina sejam danificadas, a lipídica torna-se muito suscetível ao dano (GORTARI; HOURS, 2008; KHAN; WILLIAMS; NEVALAINEN, 2004). No caso dos indivíduos infectivos, a cutícula dos nematoides é uma estrutura extracelular complexa, composta principalmente de proteínas, com vestígios de lipídeos e carboidratos, variando entre as espécies e entre os estádios de desenvolvimento dentro de uma espécie (FETTERER; RHOADS, 1993). Nesse contexto, os microrganismos utilizados nos bionematicidas devem ser capazes de produzir enzimas (ex.: quitinases e proteases) como mecanismo de ação (GORTARI; HOURS, 2008; KHAN; WILLIAMS; NEVALAINEN, 2004).

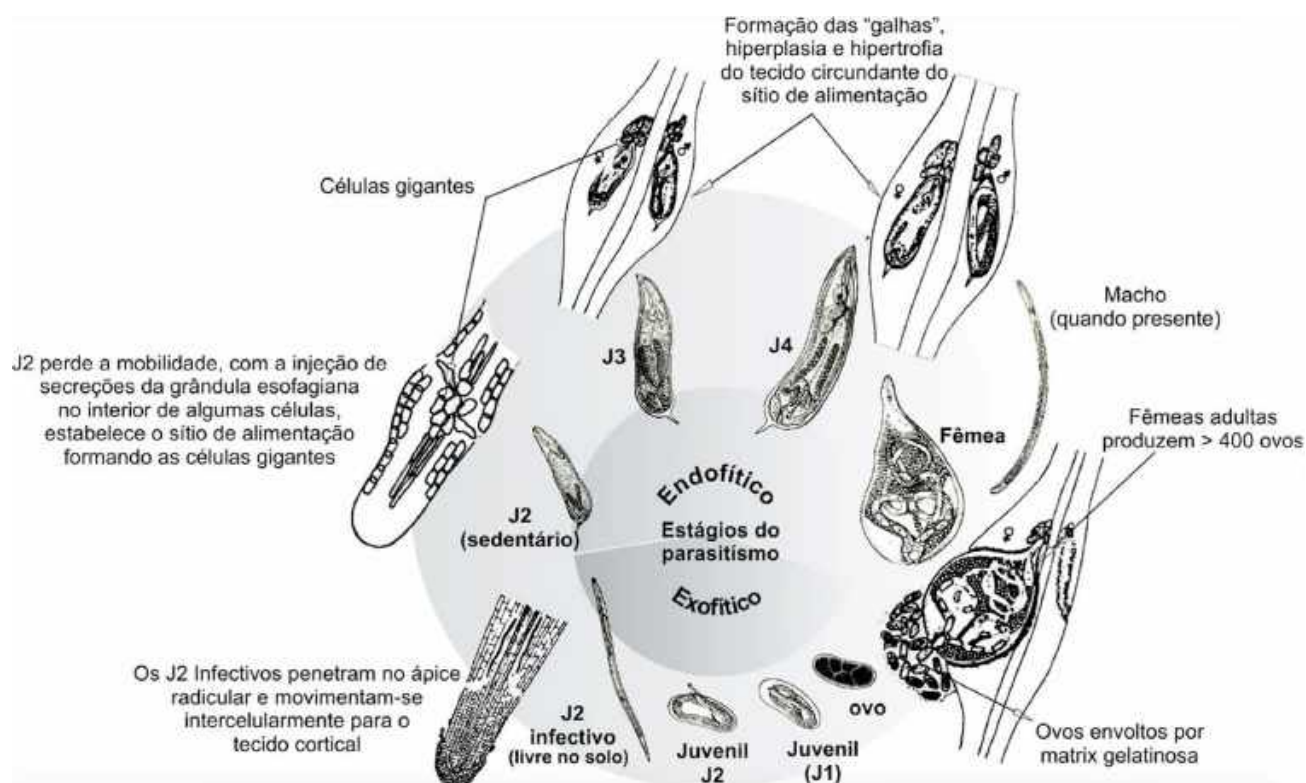


Figura 1. Estágios de parasitismo e ciclo de vida de *Meloidogyne* sp.

RIZOSFERA

Uma das fases do manejo dos fitonematoides ocorre na rizosfera, um ambiente altamente disputado, onde os microrganismos constantemente competem por recursos para sobreviver (SASSE; MARTINOIA; NORTHEN, 2018). O termo rizosfera foi primeiro cunhado por Lorentz Hiltner em 1904 (HARTMANN; ROTHBALLER; SCHMID, 2008) para descrever a zona do solo rica em nutrientes (geralmente de 1 a 3 mm em torno de raízes), onde exsudados radiculares de plantas facilitam a colonização por comunidades microbianas (MORGAN; BENDING; WHITE, 2005). A liberação de uma grande quantidade de açúcares, aminoácidos e ácidos orgânicos junto aos exsudatos radiculares influenciam a comunidade microbiana do solo (BAIS et al., 2004), que por sua vez, altera as propriedades biogeoquímicas do solo (ZOGG; TRAVIS; BRAZEAU, 2018; SASSE; MARTINOIA; NORTHEN, 2018).

Nesse complexo sistema, espécies e até características específicas de genótipos/variedades

de plantas influenciam no microbioma associado à raiz (BERENDSEN; PIETERSE; BAKKER, 2012). As alterações fisiológicas de uma planta em resposta a fatores ambientais podem afetar o microbioma da raiz (SASSE; MARTINOIA; NORTHEN, 2018).

GESTÃO DAS ESTRATÉGIAS DE MANEJO

Independente da área a ser trabalhada (talhão, quadra, estufa, canteiro, etc.), para que se possa elaborar um manejo eficiente dos fitonematoides e concomitantemente evitar que outros fitonematoides se destaquem e venham a se tornar praga-chave, faz-se necessário realizar o diagnóstico correto das espécies presentes e o monitoramento da flutuação populacional das espécies detectadas. Só é possível obter esses resultados em análises nematológicas.

Essa análise clínica subsidiará a tomada de decisão quanto às estratégias a serem adotadas. Em muitas regiões agrícolas, a análise clínica é o principal gargalo do manejo de nematoides, pois a maioria

dos laboratórios ainda realiza a identificação dos nematoides por métodos que apresentam falhas (ex.: identificação de espécie de *Meloidogyne* somente pela região perineal). Atualmente a taxonomia como área do conhecimento está focada no sistema de identificação integrativo, em que diversas ferramentas de análises enzimáticas, moleculares e filogenéticas, associadas aos métodos morfológicos tradicionais, são mais precisas (OLIVEIRA; MONTEIRO; BLOK, 2011).

As populações de nematoides fitoparasitas estão presentes em comunidades mistas junto com nematoides de vida livre e um universo de outros microrganismos. As medidas de manejo têm sido planejadas com foco em uma ou algumas espécies de fitonematoides, o que tem mostrado falhas ao longo do tempo. Assim, é importante entender o solo como um sistema composto de sistemas complexos coexistindo e que o manejo inadequado de um gênero ou espécie pode causar desequilíbrio e proporcionar o surgimento de novos nematoides potencialmente parasitas. Por isso, o termo gestão deve ser empregado.

De um ponto de vista prático, a gestão visa maximizar os lucros selecionando opções de manejos de fitonematoides que proporcionam o aumento na produtividade e, ao mesmo tempo, mantêm baixos os custos dos insumos empregados. As opções de manejo de nematoides devem ser confiáveis, uma vez que existem custos de insumos e, caso a gestão desse manejo apresente falhas na redução da população de nematoides, elas podem acarretar perdas econômicas maiores do que se nenhuma ação fosse adotada.

Até o início deste século, tinham-se a percepção de que a resistência genética da planta hospedeira, as rotações com plantas não hospedeiras e os nematicidas químicos, normalmente, forneciam uma supressão de nematoides mais confiável e eficaz do que o controle biológico (TIMPER et al., 2001). Atualmente, esse entendimento não é mais verdadeiro. Nas décadas passadas, o manejo de população de nematoide era visto apenas sobre

a ótica da sanidade da planta e não na qualidade microbiológica do solo. Hoje adota-se o termo gestão microbiológica e não somente manejo por entender e compreender o papel dos fitonematoides no sistema junto com toda a microbiota existente no solo.

Os microrganismos do solo competem com os nematoides por espaço, alimento e oxigênio, produzem metabólitos tóxicos e parasitam e matam os nematoides. Diversos grupos desses microrganismos interagem entre si, podendo aumentar ou diminuir seus efeitos sobre os nematoides.

A concentração dessas cepas selecionadas no solo é maior onde há disponibilidade de substrato “alimento” para seu crescimento e desenvolvimento. Isso ocorre prioritariamente ao redor das raízes, pois elas liberam nutrientes em seus exsudatos, e alguns microrganismos têm a capacidade de colonizar as raízes sem prejudicá-las. Outros são capazes de sobreviver na matéria orgânica enquanto não parasitam os nematoides. A compreensão do potencial de cada microrganismo disponível se faz necessária para estabelecer uma estratégia de gestão.

AGENTES DE BIOCONTROLE DE NEMATOIDES

A tendência mundial nos casos em que há necessidade de manejar os nematoides é o uso de produtos à base de microrganismos como um dos componentes do manejo integrado. No Brasil, tem havido um aumento dos produtos biológicos que estão registrados (Tabela 1) e, principalmente, disponíveis no mercado (MAPA, 2019). Para a indústria, a escolha de um microrganismo para a elaboração de um produto depende muito da espécie, de seu modo de ação, do(s) seu(s) nematoide(s)-alvo, da facilidade de multiplicação em biofábricas, da formulação e da facilidade de aplicação no campo. Quanto ao modo de ação, esses agentes de biocontrole podem atuar sobre diferentes fases da vida do fitonematoides, como as fases dentro do ovo, fases móveis no solo ou no interior das raízes. Os fungos e as bactérias são os microrganismos prioritariamente selecionados como bionematicidas.

FUNGOS

Na Indústria, os fungos filamentosos são uma das principais fontes de enzimas com finalidades industriais. Entre as muitas enzimas comercialmente disponíveis produzidas por esses fungos, podemos citar: glicoamilases, celulasas, proteases, lipases, pectinases, quitinases, lacases, catalases, fitases e dextranases. Apesar do grande número de espécies de fungos filamentosos existentes na natureza, relativamente poucas dezenas dessas espécies são comercial-

mente exploradas como produtoras de enzimas para controle de patógenos de solo (CORRÊA et al., 2014).

Os fungos nematófagos são divididos em quatro grupos: fungos predadores ou formadores de armadilha, fungos endoparasitas, fungos produtores de toxinas e fungos parasitas de ovos e fêmeas de nematoides (JANSSON; LOPEZ-LLORCA, 2001). A utilização de armadilhas é uma estratégia de ataque, na qual os fungos produzem estruturas em forma de anéis, hifas, botões e redes adesivas ao longo do micélio.

Tabela 1. Produtos comerciais registrados no Brasil para controle biológico de nematoides fitoparasitas

Microrganismo	Marca Comercial	Titular de Registro	Formulação ¹	Indicação	Concentração (UFC/mL ou g)
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Nemacontrol	Simbiose	SC	TS	5,0 x 10 ⁹
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	No-Nema	Biovalens	SC	Geral	3,0 x 10 ⁹
<i>Bacillus firmus</i>	Andril	Basf	SC	TS	4,8 x 10 ⁹
<i>Bacillus firmus</i>	Andril Prime	Basf	SC	TS	4,0 x 10 ⁹
<i>Bacillus firmus</i>	Oleaje	Basf	SC	TS	4,8 x 10 ⁹
<i>Bacillus firmus</i>	Oleaje Prime	Basf	SC	TS	4,0 x 10 ⁹
<i>Bacillus firmus</i>	Votivo	Basf	SC	SP TS	4,8 x 10 ⁹
<i>Bacillus firmus</i>	Votivo Prime	Basf	SC	TS	4,8 x 10 ⁹
<i>Bacillus licheniformis</i> + <i>B. subtilis</i>	Presence	FMC	WP	TS	1,0 x 10 ¹¹
<i>Bacillus licheniformis</i> + <i>B. subtilis</i>	Quartzo	FMC	WP	Geral	1,0 x 10 ¹¹
<i>Bacillus methylotrophicus</i>	Onix	Lab. Farroupilha	SC	Geral	1,0 x 10 ⁹
<i>Bacillus methylotrophicus</i>	Onix OG	Lab. Farroupilha	SC	Geral	1,0 x 10 ⁹
<i>Bacillus subtilis</i>	Biobaci	Biovalens	SC	Geral	1,0 x 10 ⁸
<i>Bacillus subtilis</i>	Rizos	Lab. Farroupilha	SC	Geral/TS	3,0 x 10 ⁹
<i>Bacillus subtilis</i>	Rizos OG	Lab. Farroupilha	SC	Geral/TS	3,0 x 10 ⁹
<i>Pasteuria nishizawae</i>	Clariva PN	Syngenta	SC	TS	1,0 x 10 ¹⁰
<i>Pasteuria nishizawae</i>	Clariva PN BR	Syngenta	SC	TS	1,0 x 10 ¹⁰
<i>Pochonia chlamydosporia</i>	Rizotec	Rizoflora/Stoller	WP	Geral	5,2 x 10 ⁷
<i>Purpureocillium lilacinus</i>	Nemakill	Maneogene Agrociências	SL	Geral	1,0 x 10 ⁵
<i>Purpureocillium lilacinus</i>	Nemat	Ballagro	WP	Geral/TS	7,5x 10 ⁹
<i>Purpureocillium lilacinus</i>	Purpureonyd FR 25	TZ Biotech	GE	Geral	6,5 x 10 ⁷
<i>Purpureocillium lilacinus</i>	Unique	Ballagro	WP	Alface	7,5 x 10 ⁹
<i>Trichoderma harzianum</i>	Trichodermil DS	Koppert	WG	TS	1,0 x 10 ⁸

¹SC: Suspensão concentrada; WP: Pó molhável; SL: Concentrado solúvel; GE: Gel emulsionável; WG: Granulado dispersivo.

Fonte: Mapa (2019).

Segundo Cardoso, Assis e Nahas (2009), os fungos nematófagos endoparasitas possuem a habilidade de penetrar o ovo dos nematoides com suas hifas e, no interior do ovo, expandem seu volume. Já os fungos de juvenis ou adultos de nematoides produzem hifas férteis e esporos no corpo dos nematoides e, nesse caso, o nematoide transforma-se em substrato alimentar. Na antibiose, o fungo produz uma ou mais substâncias que inibem o crescimento ou a reprodução do nematoide no ambiente ou na planta (LUCON; CHAVES; BACILIERIS, 2014).

Considerando a eficiência no controle de fitonematoides, a facilidade industrial de multiplicação e a adequada formulação com garantia de vida útil industrial e comercial, três gêneros de fungos se destacam e, portanto, os mais comumente encontrados em bionematicidas comerciais são *Pochonia chlamydosporia*, *Purpureocillium lilacinum* e espécies de *Trichoderma*.

Pochonia chlamydosporia Zare & Gams (syn. *Verticillium chlamydosporium* Goddard) é um fungo que tem sido eficiente na redução de população de nematoides, especialmente os nematoides das galhas (MOOSAVI et al., 2010; DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2012). Seu principal modo de ação contra os nematoides é o parasitismo de ovos e fêmeas. Porém, sua produção de enzimas e toxinas que alteram os exsudatos radiculares também são fatores que afetam negativamente os nematoides. *P. chlamydosporia* é um parasita facultativo, amplamente distribuído e capaz de atuar tanto como saprófita no solo (SIDDIQUI; ATKINS; KERRY, 2009), quanto como parasita de ovos e fêmeas de nematoides (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2012). Além disso, esse fungo também é capaz de colonizar as raízes de uma ampla variedade de plantas monocotiledôneas (LOPEZ-LLORCA et al., 2002) e dicotiledôneas (BORDALLO et al., 2002). Embora existam na literatura inúmeros estudos voltados ao uso do fungo *P. chlamydosporia* como ovicida e larvicida, é importante destacar a excelente capacidade de produção de proteases, quitinases e dextranases (BRAGA et al., 2010; TOBIN et al., 2008; SUFIATE et al., 2018). Além da produção de várias

enzimas, *P. chlamydosporia* tem a capacidade de produzir esporos de parede grossa com reserva nutricional (os clamidósporos), que conferem rusticidade e maior capacidade de competir, sobreviver e se estabelecer em solos com diferentes características físicas, químicas e microbiológicas (KERRY, 1995; HALLMANN; DAVIES; SIKORA, 2009). Embora estudos comprovem variação no potencial do biocontrole entre isolados (DALLEMOLE-GIARETTA et al., 2012), tornam-se importantes os trabalhos preliminares com o intuito de selecionar isolados apropriados para o controle de nematoides (MAUCHLINE; KERRY; HIRSCH, 2003).

O fungo pode ser formulado e introduzido no solo como hifas e conídios, mas o clamidósporo é a forma mais prática de inóculo. A aplicação única de 5.000 clamidósporos/grama de solo tropical forneceu controle eficiente de *Meloidogyne* sp., mas na Europa os resultados foram menos satisfatórios (SIKORA, 1992). Na Inglaterra, *P. chlamydosporia* se estabeleceu desde solos calcários a orgânicos, com sobrevivência estimada em até 3 meses após a aplicação. Já na interação com a planta, Medeiros et al. (2015) destaca que a colonização de *P. chlamydosporia* ocorre tanto na superfície quanto no interior das raízes, o que pode desencadear uma indução de resistência, causada pelo aumento de atividade enzimática.

Purpureocillium lilacinum (Thom) Luangsaard, Hywel-Jones, Houbraken, Samson (syn: *Paecilomyces lilacinus*) é um fungo típico do solo (LUANGSA-ARD et al., 2011) e pode ter ação entomopatogênica, micoparasita, saprófita e nematófaga. Assim como *P. chlamydosporia*, é um parasita facultativo de ovos.

Esse fungo possui ótimos atributos como agente de biocontrole de nematoides (ADIKO, 1984), além de parasitar ovos de *Meloidogyne* spp., pode infectar fêmeas jovens do nematoide de galhas e fêmeas de nematoides dos cistos (MORGAN-JONES; WHITE; RODRIGUEZ-KÁBANA, 1984; DUBE; SMART, 1987; KHAN; WILLIAMS; NEVALAINEN, 2006), além de exercer forte pressão na sua capacidade reprodutiva devido à infecção e, posteriormente, causar a morte do nematoide.

Purpureocillium lilacinum destaca-se por causar infecção em muitas espécies de insetos e nematóides, e alguns pesquisadores o considera tão eficiente quanto os nematicidas químicos comumente empregados na agricultura (DUBE; SMART, 1987; MENDOZA; SIKORA; KIEWNICK, 2007). Essa versatilidade e plasticidade adaptativa possibilitou o desenvolvimento de muitos produtos comerciais no Brasil (Tabela 1) e no mundo.

O gênero *Trichoderma* spp. é amplamente distribuído mundialmente e apresenta a capacidade de crescimento saprofítico na rizosfera, o que é importante na prevenção e controle de agentes patogênicos, como os fitonematoides (AMIR-AHMADI; MOOSAVI; MOAFPOURIAN, 2017), *T. longibrachiatum* (DJIAN et al., 1991), *T. viride* (ZHANG, S.; ZHANG, X., 2009), *T. harzianum* (SIDDIQUI; SHAUKAT, 2004), *T. hamatum* (GIRLANDA et al., 2001), *T. virens* (MEYER et al., 2001), *T. compactus* (YANG et al., 2010) e *T. koningii* (SANKARANARAYANAN et al., 1997) são as espécies que se destacam com mais atividade nematicida.

O fungo *Trichoderma* spp. utiliza eficientemente o local no qual está inserido através da alta capacidade de secreção de metabólitos e enzimas antibióticas (SCHUSTER; SCHMOLL, 2010), responde rapidamente aos variados estímulos do ambiente, como a luminosidade e temperatura e possui habilidade de se desenvolver numa ampla faixa de pH do solo (CARRERASVILLASENOR; SANCHEZ-ARREGUIN; HERRERA-ESTRELLA, 2012) e ainda assim reduzir populações de fitonematoides no solo (HAMZA et al., 2017; JINDAPUNNAPAT; CHINNASRI; KWANKUAE, 2013).

Indiscutivelmente, as já comprovadas habilidades de antagonismo, competição, micoparasitismo, produção de metabólitos tóxicos e produção de enzimas extracelulares classificam o gênero *Trichoderma* como um dos mais promissores e potenciais grupos de microrganismo com propriedades de controle sob fitonematoides (HARMAN, 2006; LI et al., 2007; SCHUSTER; SCHMOLL, 2010; MARTÍNEZ-MEDINA et al., 2017). Além disso, *Trichoderma* pode induzir resistência sistêmica nas

plantas, tornando-as mais fortes contra o ataque de patógenos (HADDAD, 2017). A capacidade do *Trichoderma* spp. em degradar quitina permite a sua aplicação no controle de fitonematoides (GALBIERI; ASMUS, 2016).

Essa habilidade é uma das principais armas do *Trichoderma* spp., pois a quitina é o principal constituinte do ovo de fitonematoides (MACHADO; KANEKO; PINTO, 2016). A maioria dos artigos publicados sobre a utilização de espécies de *Trichoderma* na agricultura relatam um significativo controle de *Meloidogyne* spp. Zhang, Gan e Xu (2015) apontam que o uso de *Trichoderma* contribui para diminuir a massa de ovos de *Meloidogyne* e essas constatações corroboram os resultados de Al-Hazmi e Tariqjaveed (2016) e Jindapunnapat, Chinnasri e Kwankuae (2013) que observaram redução na reprodução do fitonematóide (ovos, J2) e no número de nematóides nas raízes, respectivamente.

Além do controle biológico, a interação das espécies de fungos do gênero *Trichoderma* com a planta promove outras vantagens, como uma maior resistência aos patógenos; aumento da eficiência fotossintética; elevada absorção de nutrientes devido à produção de ácidos orgânicos (como ácido cítrico, fumárico e glucônico que promovem a solubilização de micronutrientes), fosfatos e cátions minerais, como o ferro (ASADUZZAMAN; ALAM; ISLAM, 2013) e indução de resistência sistêmica a doenças (RYDER et al., 2012). Outro benefício proporcionado por isolados de *Trichoderma* spp. é o aumento da resistência a estresses bióticos e abióticos nas plantas (HADDAD, 2017), através da melhor absorção de água e nutrientes tornando a planta mais forte e saudável.

BACTÉRIAS

Gouda et al. (2018) estimam que a concentração de bactérias da rizosfera seja de 10 a 1.000 vezes maior do que as populações bacterianas encontradas no solo mais distante dessa região. As rizobactérias *Pasteuria* spp., *Pseudomonas* spp. e *Bacillus* spp. têm sido utilizadas para o controle biológico de fitopatógenos (BERINI et al., 2018).

Nos mais diferentes nichos ou *habitat* (solo, nos tecidos das plantas hospedeiras e nos próprios nematóides, incluindo ovos e cistos) podem-se detectar bactérias com capacidade de causar algum dano à sobrevivência de fitonematóides (STIRLING, 1991; SIDDIQUI; MAHMOOD, 1999, KERRY, 2000). Além de possíveis contribuições na indução de resistência e/ou acréscimo no desenvolvimento saudável da planta, alguns autores destacam como principais modos de ação o parasitismo, a produção de antibióticos, toxinas e enzimas (HORAK et al., 2019; ENGELBRECHT et al., 2018), o que proporciona uma interferência no processo de reconhecimento planta-hospedeiro (STIRLING, 1991; SIDDIQUI, MAHMOOD 1999; TIAN et al., 2007).

Sturz e Nowak (2000) consideram como promissoras no controle biológico de nematóides as bactérias da rizosfera. Nesse caso, destacam os gêneros *Bacillus* e *Pseudomonas*. Essas considerações corroboram os dados de Tian et al. (2007) que afirmam que as rizobactérias possuem capacidade de colonizar, além da superfície do tecido externo, também o tecido interno (Figura 2).

Várias espécies de *Bacillus*, por exemplo, *B. nematocida*, controlam nematóides produzindo proteases extracelulares que destroem suas cutículas (NIU et al., 2006), e *B. thuringiensis* produzem proteínas *Cry* que são tóxicas para nematóides (BRAVO et al., 2007).

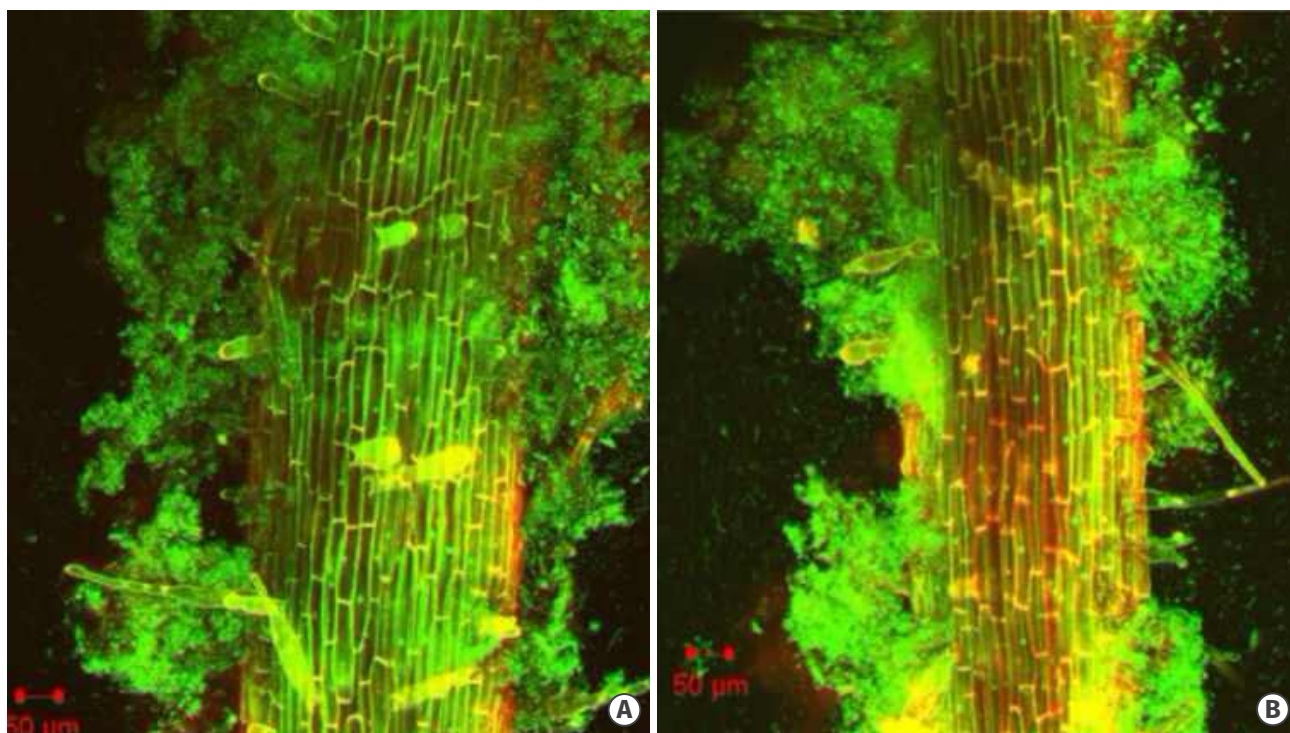


Figura 2. *Bacillus subtilis* (A) e *B. licheniformis* (B) colonizando a superfície externa de raízes ativas e formando um biofilme bacteriano (verde).

Fonte: Imagem autorizada FMC/Chr Hansen.

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS

Em geral, os metabólitos secundários podem atuar direta ou indiretamente nas populações de nematoides. Mecanismos diretos afetam a integridade dos nematoides através da produção de enzimas líticas, toxinas, gases, compostos orgânicos voláteis e outros metabólitos ou através de mecanismos indiretos que induzem outros fatores rizosféricos.

Entre os metabólitos secundários produzidos por rizobactérias, as enzimas líticas têm atraído a atenção dos cientistas desde o início das pesquisas com controle biológico de nematoides (MILLER; SANDS, 1977; GALPER; COHN; CHET, 1990). Enzimas extracelulares de bactérias que digerem os principais componentes químicos da cutícula e da casca do ovo são objetivos das pesquisas (TIAN et al., 2007; YOON et al., 2012; YANG et al., 2013).

Para exemplificar, Jung et al. (2014) demonstraram que as quitinases produzidas por *Lysobacter capsici* degradaram a casca de ovo de *Meloidogyne* spp., causando uma diminuição na eclosão. Em um experimento em casa de vegetação, a redução da população de J2 no solo e do número de massas de ovos de *Meloidogyne incognita* nas raízes de plantas de tomateiro foi atribuída à quitinase e β -1,3-glucanase secretada por *Streptomyces cacaoi* GY525 (YOON et al. 2012). Da mesma forma, El-Hadad et al. (2010) relataram a colonização de raiz por *Bacillus megaterium* PSB2 e 100% de mortalidade dos estádios J2 de *M. incognita*. Os autores detectaram alta produção de enzimas líticas, como proteases, quitinases e gelatinases pelo isolado, que poderiam ser consideradas atributos de virulência.

Proteases também têm sido amplamente estudadas em bactérias antagonistas de nematoides e, estas têm sido muito bem caracterizadas como fator de virulência de *Brevibacillus laterosporus*, que tem a capacidade de degradar as cutículas de nematoide (TIAN et al., 2006). Ainda segundo esses pesquisadores, as proteases serínicas com a capacidade de degradar as cutículas de nematoide de outras rizobactérias e fungos nematófagos mostraram uma alta similaridade percentual (correspondência de

sequência 97%–99%) com as de *Brevibacillus* (TIAN et al., 2006). Esse fato sugere que essas proteases são altamente conservadas entre as espécies microbianas. O papel das proteases no controle biológico de nematoides também foi demonstrado por Siddiqui, Haas e Heeb (2005), os quais usaram mutantes de *Pseudomonas fluorescens* CHA0 para o gene *apr A*, que codifica uma protease extracelular com atividade nematocida. Os mutantes não apresentaram atividade nematocida.

As rizobactérias podem atuar em outras partes ou regiões dos nematoides através de proteases virulentas que atingem as proteínas vitais do intestino do nematoide, causando sua morte (LIAN et al., 2007; NIU et al., 2010). ZHENG et al. (2016) demonstraram que combinações de diversos tipos de proteases podem ocorrer nos *Bacillus* com ações nematocidas.

Mesmo quando os fitonematoides apresentam maior conteúdo lipídico, poucos estudos têm se concentrado nas lipases como potenciais fatores de virulência. Castañeda-Alvarez et al. (2016) realizaram um estudo *in vitro* e relataram cepas pertencentes a *B. thuringiensis*, *B. megaterium* e *B. amyloliquefaciens* com forte atividade de lipase que causou a mortalidade do nematoide *Xiphinema*.

Em geral, as enzimas líticas desempenham um papel crucial na atividade rizobacterianas contra nematoides devido a seus diferentes mecanismos de ação e à fisiologia relativamente simples e estrutura de nematoides.

OUTROS METABÓLITOS SECUNDÁRIOS PRODUZIDOS POR *Bacillus*

Entre a ampla gama de bactérias descritas como ativas contra nematoides, os membros do gênero *Bacillus* são os mais estudados. Outros compostos secundários de estirpes de *Bacillus* (diferentes de enzimas líticas e proteínas Cry) foram reportados com atividade de controle de nematoides. Mendoza, Kiewnick e Sikora (2008) relataram que *B. firmus* produziu metabólitos não identificados durante a cultura que reduziram significativamente a eclosão de ovos de *M. incognita* e controlaram *Radopholus similis*. Da mesma forma, os metabólitos produzidos

⁶Informação fornecida por Maria da Penha Angeletti em 2019.

por *B. cereus* e *B. subtilis* mostraram atividade *in vitro* contra J2 de *M. exigua*; esses compostos foram identificados como uracila, 9H-purina e di-hidrouracil, sendo este último o mais eficaz (OLIVEIRA et al., 2014).

O peptídeo plantazolicina, produto do gene RBAM_007470, foi identificado como o fator nematicida da estirpe *B. amyloliquefaciens* FZB42 (LIU et al., 2013). Outros metabólitos relacionados ao controle de nematoides produzidos por *B. cereus* estirpe S2 foram identificados como esfingosina C16 e fitoesfingosina. A esfingosina atuou no trato intestinal de *C. elegans* e destruiu a área genital do nematoide com a consequente inibição da reprodução (GAO et al., 2016).

Liu et al. (2010) relataram que *B. thuringiensis* produz um derivado de nucleosídeo de adenina com habilidades inseticidas e nematicidas que inibe a formação de energia (ATP - moléculas de energia vital para os seres vivos). Estirpes de *B. thuringiensis* expressando thuringiensina (β -exotoxina) podem matar nematoides com uma taxa de mortalidade maior do que aqueles que não expressam a molécula (ZHENG et al., 2016).

O antibiótico policetídeo 2,4-diacetilfloroglucinol (DAPG) é produzido por algumas cepas da rizobactéria promotora de crescimento de plantas *P. fluorescens*. Uma linhagem superprodutora de DAPG inibiu a formação de galhas de *M. incognita* nos sistemas radiculares de plantas de feijão-mungo, soja e tomate (SIDDIQUI; SHAUKAT, 2003). Foi demonstrado que o DAPG não afeta todos os nematoides da mesma maneira. Em seu estudo, Meyer et al. (2009) descobriram que a exposição à DAPG diminuiu a eclosão de ovos de *M. incognita*, mas não teve efeito sobre seu estágio J2. No entanto, outros nematoides testados (ovos e J2 de *Heterodera glycines*, juvenis e adultos de *Pristionchus scribneri*, ovos e adultos de *Pratylenchus pacificus*, e ovos e adultos de *Rhabditis rainai*) não foram afetados pelo metabólito.

A hipótese é que a atividade de biocontrole dos fitonematóides exercida pela DAPG é devida à ação sinérgica com outros metabólitos produzidos pelas rizobactérias, como HCN e pyoluteorina ou agentes indutores de resistência sistêmica nas raízes das plantas (SIDDIQUI; SHAUKAT, 2003).

TOXINAS DO CRY DE *Bacillus thuringiensis*

Durante a esporulação, as estirpes de *Bacillus thuringiensis* produzem endotoxinas chamadas proteínas Cry, que são tóxicas para um grande número de espécies de insetos (MAAGD; BRAVO; CRICKMORE, 2001). Estudos mais recentes demonstram que algumas proteínas Cry são tóxicas para os nematoides parasitas de plantas (BRAVO et al., 2007; GUO et al., 2008). Entre as dezenas de famílias de toxinas Cry já identificadas, somente as Cry5, Cry6, Cry12, Cry13, Cry14, Cry21 apresentaram atividade nematicida (BRAVO et al., 1998; MARROQUIN et al., 2000; FRANKENHUYZEN, 2009).

O mecanismo de ação relatado para as proteínas Cry que afetam os nematoides é semelhante ao descrito em insetos. A toxina se liga às células epiteliais do intestino do nematoide, induzindo a formação de poros e vacúolos e terminando com a degradação do intestino (MARROQUIN et al., 2000). Nesse universo de possibilidades, recentemente Iatsenko, Boichenko e Sommer (2014) relataram mais duas novas protoxinas codificadas por plasmídeos (Cry21Fa1 e Cry21Ha1) de *B. thuringiensis* DB27 que também exibem atividade nematicida.

POTENCIAL DE BIOCONTROLE

Em uma revisão publicada por Siddiqui e Mahmood (1999), os autores afirmaram que a falta de interesse comercial em inoculantes bacterianos para uso como agentes de biocontrole de fitonematóides era um grande problema para o avanço da pesquisa nessa área. Hoje em dia, com a restrita grade de nematicidas químicos, o uso de bionematicidas se tornou uma prioridade (ZASADA et al., 2010). Os agentes de controle biológico e seus metabólitos relacionados têm sido o foco da busca por alternativas ambientalmente corretas. Entre os agentes de controle biológico no mercado ou em um estágio avançado de pesquisa/desenvolvimento, as bactérias rizosféricas ganharam um lugar proeminente pelos resultados da sua eficiência (Figura 3). Nesse sentido, os metabólitos secundários produzidos pelas rizobactérias são fontes potenciais de uma

nova geração de nematicidas. Apesar disso, há de considerar os custos de produção dos nematicidas que podem variar em centenas de milhões de dólares (OLSON, 2015) e a eficiência de controle em ambiente de campo em função da estabilidade dos metabólitos; do espectro de patógenos-alvo; da interação com plantas e com outros organismos; e de seu efeito sobre o meio ambiente.



Figura 3. Controle de *Pratylenchus brachyurus* demonstrado pelo vigor de planta e stand uniforme (direita) com uso de bionematicida composto por *Bacillus subtilis* e *B. licheniformis* aplicado no tratamento de semente.

Fonte: Foto de Alexandra Botelho de Lima Abreu/FMC.

No entanto, o uso desses compostos na forma ativa pode ajudar a superar problemas relacionados à sobrevivência de agentes de biocontrole, uma vez que frequentemente fracassam quando introduzidos em um novo ecossistema devido à competição com populações autóctones. Da mesma forma, o estudo

das vias metabólicas que levam à produção desses compostos pode ajudar a discernir as condições necessárias para desencadear naturalmente sua produção e consequente atividade na rizosfera.

Finalmente, alguns desses metabólitos têm sido o ponto de partida no desenvolvimento de plantas transgênicas com resistência a nematoides. Por exemplo, as toxinas de *B. thuringiensis* Cry5B expressas nas raízes de tomate podem tornar a planta resistente ao ataque de *M. incognita* (LI et al., 2007). A aplicação de técnicas moleculares e metabolômicas, assim como bioinformática, está melhorando nossa compreensão sobre a função de muitos metabólitos com potencial de biocontrole.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nas estratégias do manejo integrado e na gestão da microbiota do solo, os bionematicidas apresentam-se como uma excelente opção considerando ainda as perspectivas para o manejo e o descobrimento de novos agentes de biocontrole, além do desenvolvimento de produtos formulados. É importante destacar que além da ação nematicida, os bionematicidas favorecem a solubilização de nutrientes, a promoção de crescimento das plantas ou mesmo a ativação de suas defesas tem sido buscada.

No entanto, alguns insucessos na utilização em condições de campo estão correlacionados à falta de domínio e de conhecimento do potencial e da biologia de cada microrganismo que compõe os produtos formulados. Portanto, há também a necessidade de levar em consideração a eficiência do produto biológico que está intrinsicamente ligado ao agente potencial de controle biológico, ao seu modo de ação e ao alvo biológico a ser atingido. Várias cepas de rizobactérias e fungos produzem compostos secundários com diferentes mecanismos de ação e apresentam potencial para o desenvolvimento de ativos biotecnológicos que são promissores em controlar populações de nematoides fitoparasitas em áreas agrícolas do Brasil e do mundo.

REFERÊNCIAS

- ADIKO, A. Biological control of *Meloidogyne incognita* with *Paecilomyces lilacinus*. M.Sc. Thesis, **Department of Plant Pathology**, North Carolina State University, Raleigh. 1984.
- AL-HAZMI, A. S.; TARIQJAVEED, M. Effects of different inoculum densities of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* against *Meloidogyne javanica* on tomato. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 23, n. 2, p. 288–292, 2016.
- AMIR-AHMADI, N.; MOOSAVI, M. R.; MOAFPOURIAN, G. Effect of soil texture and its organic content on the efficacy of *Trichoderma harzianum* (MIAU 145 C) in controlling *Meloidogyne javanica* and stimulating the growth of kidney beans. **Biocontrol Science and Technology**, v. 27, n. 1, p. 115–127, 2017.
- ASADUZZAMAN, M.; ALAM, M. J.; ISLAM, M. M. Effect of *Trichoderma* on seed germination and seedling parameters of chili. **Journal of Science Foundation**, v. 8, n. 1-2, p. 141–150, 2013.
- BAIS, H. P.; PARK, S. W.; WEIR, T. L.; CALLAWAY, R. M.; VIVANCO, J. M. How plants communicate using the underground information superhighway. **Trends Plant Sci.**, v. 9, n. 1, p. 26–32, 2004.
- BERENDSEN, R. L.; PIETERSE, C. M.; BAKKER, P. A. The rhizosphere microbiome and plant health. **Trends Plant Sci.**, v. 17, n. 8, p. 478–486, 2012.
- BERINI, F.; KATZ, C.; GRUZDEV, N.; CASARTELLI, M.; TETTAMANTI, G.; MARINELLI, F. Microbial and viral chitinases: Attractive biopesticides for integrated pest management. **Biotechnol. Adv.**, v. 36, p. 818–838, 2018.
- BORDALLO, J. J.; LOPEZ-LLORCA, L. V.; JANSSON, H. B.; SALINAS, J.; ASENSIO, L. Colonisation of plant roots by egg-parasitic and nematode-trapping fungi. **New Phytologist**, v. 154, p. 491–499, 2002.
- BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; CARVALHO, O. R. et al. Ovicidal action of a crude enzymatic extract of the fungus *Pochonia chlamydosporia* against cyathostomin eggs. **Veterinary Parasitology**, v. 172, p. 264–268, 2010.
- BRAVO, A.; GILL, S. S.; SOBERO, M. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* cry and Cyt toxins and their potential for insect control. **Toxicon**, v. 49, n. 4, p. 423–435, 2007.
- BRAVO, A.; SARABIA, S.; LOPEZ, L.; ONTIVEROS, H.; ABARCA, C.; ORTIZ, A. Characterization of cry genes in a Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 64, p. 4965–4972, 1998.
- CARDOSO, E. R.; ASSIS, L. C.; NAHAS, E. Nutrição e crescimento do fungo nematófago *Arthrobotrys oligospora*. **Summa Phytopathologica**, v. 35, n. 4, p.267–272, dez. 2009.
- CARRERASVILLASENOR, N.; SANCHEZ-ARREGUIN, J. A.; HERRERA-ESTRELLA, A. H. *Trichoderma*: sensing the environment for survival and dispersal. **Microbiology**, v. 158, n. 1, p. 3–16, jan. 2012.
- CASTAÑEDA-ALVAREZ, C.; PRODAN, S.; ROSALES, I. M.; ABALLAY, E. Exoenzymes and metabolites related to the nematicidal effect of rhizobacteria on *Xiphinema index* Thorne & Allen. **J. Appl. Microbiol.**, v. 120, n. 2, p. 413–424, 2016.
- CORRÊA, R. C. G.; RHODEN, S. A.; MOTA, T. R.; AZEVEDO, J. L.; PAMPHILE, J. A.; DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; FERRAZ S.; NEVES, W. S.; LOPES, E. A.; COUTINHO, M. M. Efeito da concentração de clamidósporos de *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia* no controle de *Meloidogyne javanica*. **Nematologia Brasileira**, v. 32, p. 327–332, 2014.
- DALLEMOLE-GIARETTA, R.; FREITAS, L. G.; LOPES, E. A.; PEREIRA, O. L.; ZOOCA, R. J. F.; FERRAZ, S. Screening of *Pochonia chlamydosporia* Brazilian isolates as biocontrol. **Journal Article**, v. 42, p. 102–107, 2012.
- DJIAN, C.; PIJAROUVSKI, L.; PONCHET, M.; ARPIN, N. Acetic acid, a selective nematicidal metabolite from culture filtrates of *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samsan and *Trichoderma longibrachiatum* Rifai. **Nematologica**, v. 37, p. 101–102, 1991.
- DUBE, B.; SMART JR, G. C. Biological control of *Meloidogyne incognita* by *Paecilomyces lilacinus* and *Pasteuria penetrans*. **Journal of Nematology**, v. 19, p. 222–227, 1987.
- DUNCAN, L. W. Current options for nematode management. **Annual Review of Phytopathology**, v. 29, p. 469–490, 1991.
- EL-HADAD, M. E.; MUSTAFA, M. I.; SELIM, S. M.; EL-TAYEB, T. S.; MAHGOOBI, A. E. A.; AZIZ, N. H. A. In vitro evaluation of some bacterial isolates as biofertilizers and biocontrol agents against the second stage juveniles of *Meloidogyne incognita*. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 26, p. 2249–2256, 2010.
- ENGELBRECHT, G.; HORAK, I.; LZÉ RENSBURG, P. J. J.; CLAASSENS, S. *Bacillus*-based bionematicides: development, modes of action and commercialisation. **Biocontrol Science and Technology**, v. 28, n. 7, p. 629–653, 2018.
- FERRAZ, S.; SANTOS, M. A. Controle biológico de fitonematóides pelo uso de fungos. **Revisão Anual de Proteção de Plantas**, v. 3, p. 283–314, 1995.
- FETTERER, R. H.; RHOADS, M. L. Biochemistry of the nematode cuticle: relevance to parasitic nematodes of livestock. **Veterinary Parasitology**, v. 46, p. 103–111, 1993.
- FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. **J. Invertebr. Pathol.**, v. 101, n. 1, p. 1–16, 2009.
- GALBIERI, R.; ASMUS, L. G. Principais espécies de nematóides do algodoeiro no Brasil. In: GALBIERI, R.; BELOT, L. J. (Ed.). **Nematóides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros**: biologia e medidas de controle. Cuiabá, MT: Instituto Mato-grossense do Algodão, 2016, p. 11–36.
- GALPER, S.; COHN, E.; CHET, I. Nematicidal effect of collagen-amended soil and the influence of protease and collagenase. **Rev. Nematol.**, v. 13, p. 67–71, 1990.

- GAO, H.; QI, G.; YIN, R.; ZHANG, H.; LI, C.; ZHAO, X. *Bacillus cereus* strain S2 shows high nematocidal activity against *Meloidogyne incognita* by producing sphingosine. **Scientific Reports**, 6: 28756, 2016.
- GIRLANDA, M.; PEROTTO, S.; MOENNE-LOCCOZ, Y.; BERGERO, R.; LAZZARI, A.; DEFAGO, G.; BONFANTE, P.; LUPPI, A. M. Impact of biocontrol *Pseudomonas fluorescens* CHA0 and a genetically modified derivative on the diversity of culturable fungi in the cucumber rhizosphere. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 67, p. 1851-1864, 2001.
- GORTARI, M. C.; HOURS, R. A. Fungal chitinases and their biological role in the antagonism onto nematode eggs. A review. **Mycological Progress**, v. 7, p. 221-238, 2008.
- GOUDA, S.; KERRY, R. G.; DAS, G.; PARAMITHIOTIS, X.; SHIN, H. S.; PATRA, J. K. Revitalization of plant growth promoting rhizobacteria for sustainable development in agriculture. **Microbiol. Res.**, v. 206, p. 131-140, 2018.
- GUO, S.; LIU, M.; PENG, D.; JI, S.; WANG, P.; YU, Z.; SUN, M. New strategy for isolating novel nematocidal crystal protein genes from *Bacillus thuringiensis* strain YBT-1518. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 74, n. 22, p. 6997-7001, 2008.
- HADDAD, P. E.; LEITE, L. G.; LUCON, C. M. M.; HARAKAVA, R. Selection of *Trichoderma* spp. strains for the control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 52, n. 12, p. 1140-1148, 2017.
- HALLMANN, J.; DAVIES, K. G.; SIKORA, R. Biological control using microbial pathogens, endophytes and antagonists. In: Perry, R. N.; MOENS, M.; STARR, J. L. (Ed.). **Root-knot Nematodes**. CAB International, Wallingford, p. 380-411, 2009.
- HAMZA, M. A. et al. Diversity of nematophagous fungi in Moroccan olive nurseries: Highlighting prey-predator interactions and efficient strains against root-knot nematodes. **Biological Control**, v. 114, p. 14-23, nov. 2017.
- HARMAN, G. E. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. **Phytopathology**, v. 96, p. 190-194, 2006.
- HARTMANN, A.; ROTHBALLER, M.; SCHMID, M. Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. **Plant and Soil**, v. 312, p. 7-14, 2008.
- HORAK, I.; ENGELBRECHT, G.; JANSEN RENSBURG, P. J.; CLAASSENS, S. Microbial metabolomics: essential definitions and the importance of cultivation conditions for utilizing *Bacillus* species as bionematicides. **J. Appl. Microbiol.**, v. 127, n. 2, p. 326-343, 2019.
- IATSENKO, I.; BOICHENKO, I.; SOMMER, R. J. *Bacillus thuringiensis* DB27 produces two novel protoxins, Cry21Fa1 and Cry21Ha1, which act synergistically against nematodes. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 80, n. 10, p. 3266-3275, 2014.
- JANSSON, H.-B.; LOPEZ-LLORCA, L. V. Biology of nematophagous fungi. In: MISRA, J. K.; HORN, B. W. (Ed.). *Trichomycetes and other fungal groups*. Science Publishers, Enfield, p. 145-173, 2001.
- JINDAPUNNAPAT, K.; CHINNASRI, B.; KWANKUAE, S. Biological control of root-knot nematodes (*Meloidogyne enterolobii*) in guava by the fungus *Trichoderma harzianum*. **Journal of Developments in Sustainable Agriculture**, v. 8, n. 2, p. 110-118, 2013.
- JUNG, W. J.; KIM, K. Y.; PARK, Y. S. et al. Purification and properties of a *Meloidogyne* antagonistic chitinase from *Lyso bacter capsici* YS1215. **Nematology**, v. 16, p. 63-72, 2014.
- KERRY, B. R. Ecological considerations for the use of nematophagous fungus, *Verticillium chlamydosporium*, to control plant parasitic nematodes. **Canadian Journal of Botany**, v. 73, p. 65-70, 1995.
- KERRY, B. R. Rhizosphere interactions and exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review Phytopathology**, v. 38, p. 423-441, 2000.
- KHALIL, M. S. Alternative approaches to manage plant parasitic nematodes. **Journal of Plant Pathology & Microbiology**, v. 4, 1000 e 105, 2013.
- KHAN, A.; WILLIAMS, K. L.; NEVALAINEN, H. K. M. Control of plant-parasitic nematodes by *Paecilomyces lilacinus* and *Monacrosporium lysipagum* in pot trials. **BioControl**, v. 51, n. 5, p. 643-658, 2006.
- KHAN, A.; WILLIAMS, K. L.; NEVALAINEN, H. K. M. Effects of *Paecilomyces lilacinus* protease and chitinase on the eggshell structures and hatching of *Meloidogyne javanica* juveniles. **Biological Control**, v. 31, p. 346-352, 2004.
- LI, G. H.; ZHANG, K. Q.; XU, J. P.; DONG, J. Y.; LIU, Y. J. Nematicidal substances from fungi. **Recent Pat. Biotechnol.**, v. 1, p. 212-233, 2007.
- LIAN, L. H.; TIAN, B. Y.; XIONG, R. et al. Proteases from *Bacillus*: a new insight into the mechanism of action for rhizobacterial suppression of nematode populations. **Let. Appl. Microbiol.**, v. 45, p. 262-269, 2007.
- LIU, X. Y.; RUAN, L. F.; HU, Z. F.; PENG, D. H.; CAO, S. Y.; YU, Z. N.; LIU, Y.; ZHENG, J. S.; SUN, M. Genome-wide screening reveals the genetic determinants of an antibiotic insecticide in *Bacillus thuringiensis*. **J. Biol. Chem.**, v. 285, p. 50, p. 39191-39200, 2010.
- LIU, Z.; BUDI HARJO, A.; WANG, P.; SHI, H.; FANG, J.; BORRIS, R. et al. The highly modified microcin peptide plantazolicin is associated with nematocidal activity of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 97, p.10081-10090, 2013.
- LOPES, E. A.; FERRAZ, S. Importância dos fitonematoides na agricultura. In: OLIVEIRA, C. M. G.; SANTOS, M. A.; CASTRO, L. H. S. (Ed.). **Diagnose de fitonematoides**. Campinas: Millennium Editora, 2016, p. 1-11.
- LOPEZ-LLORCA, L. V.; OLIVARES-BERNABEU, C.; SALINAS, J.; JANSSON, H. B.; KOLATTUKUDY, P. E. Pre-penetration events in fungal parasitism of nematode eggs. **Mycological Research**, v. 106, p. 499-506, 2002.

- LUANGSA-ARD, J.; HOUBRAKEN, J.; VAN DOORN, T.; HONG, S. B.; BORMAN, A. M.; HYWELJONES, N. L.; SAMSON, R. A. *Purpureocillium*, a new genus for the medically important *Paecilomyces lilacinus*. **FEMS Microbiology Letter**, v. 321, n. 2, p. 141-9, 2011.
- LUCON, C. M.; CHAVES A. L.; BACILIERI, S. **Trichoderma**: o que é, para que serve e como usar corretamente na lavoura. São Paulo: Instituto Biológico, 2014. 28 p.
- MAAGD, R. A.; BRAVO, A.; CRICKMORE, N. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. **Trends Genet.**, v. 17, n. 193-199, 2001.
- MACHADO A. C.; KANEKO L.; PINTO Z. V. Controle Biológico. In: GALBIERI, R.; BELOT, J. L. (Ed.). **Nematóides fitoparasitas do algodoeiro nos cerrados brasileiros: biologia e medidas de controle**. Cuiabá: Instituto Mato-grossense do Algodão, p. 287-312, 2016.
- MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação de Agrotóxico e Afins/DFIA/SDA. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários – AGROFIT**.- Consulta de Produtos Formulados. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 4 jul. 2019.
- MARROQUIN, L. D.; ELYASSNIA, D.; GRIFFITTS, J. S.; FEITELSON, J. S.; AROIAN, R. V. *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin susceptibility and isolation of resistance mutants in the nematode *Caenorhabditis elegans*. **Genetics**, v. 155, p. 1693-1699, 2000.
- MARTÍNEZ-MEDINA, A.; FERNANDEZ, I.; LOK, G. B.; POZO, M. J.; PIETERSE, C. M.; VAN WEES, S. C. Shifting from priming of salicylic acid-to jasmonic acid-regulated defences by *Trichoderma* protects tomato against the root knot nematode *Meloidogyne incognita*. **New Phytologist**, v. 213, n. 3, p. 1363-1377, 2017.
- MAUCLINE, T. H.; KERRY, B. R.; HIRSCH, P. R. The biocontrol fungus *Pochonia chlamydosporia* shows nematode host preference at the infraspecific level. **Mycological Research**, v. 108, n. 2, p. 161-169, 2003.
- MEDEIROS, H. A.; RESENDE, R. S.; FERREIRA, F. C.; FREITAS, L. G.; RODRIGUES, F. A. Induction of resistance in tomato against *Meloidogyne javanica* by *Pochonia chlamydosporia*. **Nematoda**, v. 2, p. 10015-10022, 2015.
- MENDOZA, A. R.; SIKORA, R. A.; KIEWNICK, S. Influence of *Paecilomyces lilacinus* strain 251 on the biological control of the burrowing nematode *Radopholus similis* in banana. **Nematropica** 37: 203-213, 2007.
- MENDOZA, A.; KIEWNICK, S.; SIKORA, R. *In vitro* activity of *Bacillus firmus* against the burrowing nematode *Radopholus similis*, the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* and the stem nematode *Ditylenchus dipsaci*. **Biocontrol Sci. Tech.**, v. 18, n. 4, p. 377-389, 2008.
- MEYER, S. L. F.; HALBRENDT, J. M.; CARTA, L. K. et al. Toxicity of 2,4-diacetylphloroglucinol (DAPG) to plant-parasitic and bacterial-feeding nematodes. **J. Nematol.**, v. 41, n. 4, p. 274-280, 2009.
- MEYER, S. L. F.; ROBERTS, D. P.; CHITWOOD, D. J.; CARTA, L. K.; LUMSDEN, R. D.; MAO, W. Application of *Burkholderia cepacia* and *Trichoderma virens*, alone and in combinations, against *Meloidogyne incognita* on bell pepper. **Nematropica**, v. 31, p. 75-86, 2001.
- MILLER, P. M.; SANDS, D. C. Effects of hydrolytic enzymes on plant-parasitic nematodes. **Rev. Nematol.**, v. 9, n. 3, p. 192-197, 1977.
- MOOSAVI, M. R.; ZARE, R.; ZAMANIZADEH, H. R.; FATEMY, S. Pathogenicity of *Pochonia* species on eggs of *Meloidogyne javanica*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 104, n. 2, p. 125-133, 2010.
- MORGAN, J. A. W.; BENDING, G. D.; WHITE, P. J. Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere. **J. Exp. Bot.**, v. 46, n. 417, jul. 2005.
- MORGAN-JONES, G.; WHITE, J. F.; RODRIGUEZ-KÁBANA, R. Phytonematode pathology: ultrastructural studies, II parasitism of *Meloidogyne arenaria* eggs and larvae by *Paecilomyces lilacinus*. **Nematropica**, v. 14, p. 57-71, 1984.
- MOURA, G. S.; FRANZENER, G. Biodiversity of nematodes biological indicators of soil quality in the agroecosystems. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v. 84, 2017.
- NIU, Q.; HUANG, X.; ZHANG, L. et al. A neutral protease from *Bacillus nematocida*, another potential virulence factor in the infection against nematodes. **Arch. Microbiol.**, v. 185, p. 439-448, 2006.
- NIU, Q.; HUANG, X.; ZHANG, L.; XU, J.; YANG, D.; WEI, K.; NIU, X.; AN, Z.; BENNETT, J. W.; ZOU, C.; YANG, J.; ZHANG, K. Q. A Trojan horse mechanism of bacterial pathogenesis against nematodes. **PNAS**, v. 107, n. 38, p. 16631-16636, 2010.
- OLIVEIRA, C. M. G.; MONTEIRO, A. R.; BLOK, V. C. Morphological and molecular diagnostics for plant-parasitic nematodes: working together to get the identification done. **Tropical Plant Pathology**, Brasília, v. 36, n. 2, p. 65-73, abr. 2011.
- OLIVEIRA, D. F.; SANTOS JUNIOR, H. M.; DOS NUNES, A. S. et al. Purification and identification of metabolites produced by *Bacillus cereus* and *B. subtilis* active against *Meloidogyne exigua*, and their *in silico* interaction with a putative phosphoribosyltransferase from *M. incognita*. **An. Acad. Bras. Cienc.**, v. 86, p. 525-538, 2014.
- OLSON, S. An analysis of the biopesticide market now and where it is going. The biopesticide market. **Outlooks Pest Manage**, v. 26, n. 203-206, 2015.
- RYDER, L. S.; HARRIS, B. D.; SOANES, D. M.; KERSHAW, M. J.; TALBOT, N. J.; THORNTON, C. R. Saprotrophic competitiveness and biocontrol fitness of a genetically modified strain of the plant-growth-promoting fungus *Trichoderma hamatum* GD12. **Microbiology**, v. 158, p. 84-97, 2012.
- SANKARANARAYANAN, C.; HUSSAINI, S.; SREERAMAKUMAR, S.; PRASAD, R. D. Nematicidal effect of fungal filtrates against root-knot. **J. Biol. Control**, v. 11, p. 37-41, 1997.

- SASSE, J.; MARTINOIA, E.; NORTHEN, T. Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome? **Trends Plant Sci.**, v. 23, n. 1, p. 25–4, 2018.
- SCHUSTER, A.; SCHMOLL, M. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 87, n. 3, p. 787–799, 2010.
- SIDDIQUI, I. A.; ATKINS, S. D.; KERRY, B. R. Relationship between saprotrophic growth in soil of different biotypes of *Pochonia chlamydosporia* and the infection of nematode eggs. **The Annals of Applied Biology**, v. 155, n. 1, p. 131–141, 2009.
- SIDDIQUI, I. A.; SHAUKAT, S. S. Plant species, host age and host genotype effects on *Meloidogyne incognita* biocontrol by *Pseudomonas fluorescens* strain CHA0 and its genetically-modified derivatives. **J. Phytopathol.**, v. 151, p. 231–238, 2003.
- SIDDIQUI, I. A.; SHAUKAT, S. S. *Trichoderma harzianum* enhances the production of nematicidal compounds *in vitro* and improves biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Pseudomonas fluorescens* in tomato. **Lett. Appl. Microbiol.**, v. 38, p. 169–175, 2004.
- SIDDIQUI, I.; HAAS, D.; HEEB, S. Extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* CHA0, a biocontrol factor with activity against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 71, n. 9, p. 5646–5649, 2005.
- SIDDIQUI, Z. A.; MAHMOOD, I. Role of bacteria in the management of plant parasitic nematodes: a review. **Bioresource Technology**, Washington, v. 69, n. 2, p. 167–179, 1999.
- SIKORA R. A. Management of the antagonistic potential in agriculture ecosystems for the biocontrol of plant-parasitic nematodes. **Annu. Rev. Phytopathol.**, v. 30, p. 245–270, 1992.
- SIKORA, R. A.; COYNE, D.; HALLMANN, J.; TIMPER, P. Reflections and challenges: nematology in subtropical and tropical agriculture. In: SIKORA, R. A.; COYNE, D.; HALLMANN, J.; TIMPER, P. **Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture**. 3. ed. Wallingford, UK: CABI Publishing, p. 1-19, 2018.
- STIRLING, G. R. **Biological control of plant parasitic nematodes**: progress, problems and prospects. Wallingford: CAB International, p. 282, 1991.
- STURZ, A. V.; NOWAK, J. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops. **Applied Soil Ecology**, Amsterdã, v. 15, n. 2, p. 183-190, 2000.
- SUFIAE, B. L.; SOARES, F. E. F.; MOREIRA, S. S.; GOUVEIA, A. S.; CARDOSO, E. F.; BRAGA, F. R.; ARAÚJO, J. V.; QUEIROZ, J. H. *In vitro* and *in silico* characterization of a novel dextranase from *Pochonia chlamydosporia*. **Biotech.**, v. 8, p. 1–9, 2018.
- TIAN, B. Y.; LI, N.; LIAN, L. H.; LIU, J. W.; YANG, J. K.; ZHANG, K. Q. Cloning, expression and deletion of the cuticle-degrading protease BLG4 from nematophagous bacterium *Brevibacillus laterosporus* G4. **Arch. Microbiol.**, v. 186, p. 297–305, 2006.
- TIAN, B. Y.; YANG, J. K.; LIAN, L. H.; WANG, C. Y.; LI, N.; ZHANG, K. Q. Role of neutral protease from *Brevibacillus laterosporus* in pathogenesis of nematode. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 74, p. 372–380, 2007.
- TIMPER, P.; MINTON, N. A.; JOHNSON, A. W.; BRENNEMAN, T. B.; CULBREATH, A. K.; BURTON, G. W. Influence of cropping systems on stem rot (*Sclerotium rolfsii*), *Meloidogyne arenaria* and the nematode antagonist *Pasteuria penetrans* in peanut. **Plant Disease**, v. 85, p. 767–772, 2001.
- TOBIN, J. D.; HAYDOCK, P. P. J.; HARE, M. C. et al. The compatibility of the fungicide azoxystrobin with *Pochonia chlamydosporia*, a biological control agent for potato cyst nematodes (*Globodera* spp.) **The Annals of Applied Biology**, v. 152, p. 301–305, 2008.
- YANG, Z. S.; LI, G. H.; ZHAO, P. J.; ZHENG, X.; LUO, S. L.; LI, L.; NIU, X. M.; ZHANG, K. Q. Nematicidal activity of *Trichoderma* spp. and isolation of an active compound. **World J. Microbiol. Biotechnol.**, v. 26, p. 2297–2302, 2010.
- YANG, J.; LIANG, L.; LI, J.; ZHANG, K. Q. Nematicidal enzymes from microorganisms and their applications. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v. 97, p. 7081–7095, 2013.
- YOON, G. Y.; LEE, Y. S.; LEE, S. Y.; PARK, R. D.; HYUN, H. N.; NAM, Y.; KIM, K. Y. Effects on of chitinase, glucanase and a secondary metabolite from GY525. **Nematology**, v. 14, p. 175–184, 2012.
- ZASADA, I.; HALBRENDT, J.; KOKALIS-BURELLE, N.; LAMONDIA, J.; MCKENRY, M.; NOLING, J. Managing nematodes without methyl bromide. **Annu. Rev. Phytopathol.**, v. 48, n. 1, p. 311–328, 2010.
- ZHANG, S. X.; ZHANG, X. Effects of two composted plant pesticide residues, incorporated with *Trichoderma viride*, on root-knot nematode in balloon flower. **Agric. Sci.**, v. 8, p. 447–454, 2009.
- ZHANG, S.; GAN, Y.; XU, B. Biocontrol potential of a native species of *Trichoderma longibrachiatum* against *Meloidogyne incognita*. **Applied Soil Ecology**, v. 94, p. 21–29, 2015.
- ZHENG, Z.; ZHENG, J.; ZHANG, Z.; PENG, D.; SUN, M. Nematicidal spore-forming bacilli share similar virulence factors and mechanisms. **Sci. Rep.** 6:31341, 2016.
- ZOGG, G. P.; TRAVIS, S. E., AND BRAZEAU D. A. Strong associations between plant genotypes and bacterial communities in a natural salt marsh. **Ecol. Evolut.**, v. 8, n. 9, p. 4721–4730, 2018.