



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
CURSO DE AGRONOMIA**



**ITAIR HERNANDES**

**POTENCIAL NEMATICIDA DE MICRORGANISMOS DO ALIMENTO  
LARVAL DE ABELHA SEM FERRÃO**

**UBERLÂNDIA – MG  
MARÇO – 2025**

**ITAIR HERNANDES**

**POTENCIAL NEMATICIDA DE MICRORGANISMOS DO ALIMENTO LARVAL  
DE ABELHA SEM FERRÃO**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao curso de  
Agronomia, da Universidade  
Federal de Uberlândia, para  
obtenção do grau de Engenheira  
Agrônoma.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nilvanira  
Donizete Tebaldi.

**UBERLÂNDIA – MG  
MARÇO – 2025**

## **ITAIR HERNANDES**

### **POTENCIAL NEMATICIDA DE MICRORGANISMOS DO ALIMENTO LARVAL DE ABELHA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao curso de  
Agronomia, da Universidade  
Federal de Uberlândia, para  
obtenção do grau de Engenheira  
Agrônoma.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nilvanira  
Donizete Tebaldi.

Aprovado pela Banca Examinadora em 16 de abril de 2025.

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Nilvanira Donizete Tebaldi  
Orientador

---

Dr. Guilherme Nunes Moreira Costa  
Membro da Banca

---

Ma. Ana Carolina Pires Jacinto  
Membro da Banca

**UBERLÂNDIA – MG  
MARÇO – 2025**

## AGRADECIMENTOS

A realização deste Trabalho de Conclusão de Curso é fruto de uma jornada repleta de aprendizados, desafios e muitas conquistas, e não teria sido possível sem o apoio de pessoas que foram fundamentais ao longo desse processo.

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, por me conceder força, saúde e perseverança para chegar até aqui, iluminando meu caminho em cada passo desta caminhada.

À minha família, que sempre esteve ao meu lado, oferecendo apoio incondicional, paciência e compreensão nos momentos de dificuldade e celebração nas conquistas.

Ao meu noivo, que esteve ao meu lado em todos os momentos, oferecendo carinho, incentivo e apoio em cada etapa dessa jornada. Sua presença e suas palavras de encorajamento me fortaleceram nos momentos de maior cansaço e dúvida. Sou imensamente grata por ter você ao meu lado, compartilhando essa conquista comigo.

Agradeço a Professora Dr<sup>a</sup> Nilvanira Donizete Tebaldi, que me orientou ao longo deste trabalho. Agradeço ao meu coorientador Guilherme Nunes Moreira Costa, com seu conhecimento, experiência e incentivo, sempre disponível para sanar dúvidas e contribuir com sugestões essenciais para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas e amigos que fizeram parte desta trajetória, compartilhando momentos de estudo, troca de idéias e apoio mútuo, tornando essa caminhada mais leve e significativa. Vocês foram fundamentais para tornar este percurso mais inspirador e agradável.

E, por fim, a todos os professores que, ao longo da minha formação, contribuíram para o meu crescimento acadêmico e pessoal, transmitindo não apenas conhecimentos, mas também valores que levarei comigo ao longo de toda a minha vida.

Meu sincero e profundo agradecimento a todos que, de alguma forma, fizeram parte desta conquista.

## RESUMO

A produção de soja enfrenta diversos desafios entre eles o ataque de pragas e doenças que podem causar danos consideráveis às plantas, reduzindo a produtividade das lavouras. Dentre os patógenos, os nematoides são uma ameaça significativa, afetando as raízes e prejudicando a absorção de água e nutrientes pelas plantas. O objetivo do trabalho foi avaliar o potencial nematicida de microrganismos do alimento larval de abelha no controle de *Meloidogyne incognita* na cultura da soja. O experimento foi composto por 11 tratamentos, sendo 9 microrganismos (MS29, MS14A, MQ1B, MS47, MS22, MS11, MQ54B, MS41C e MS45), o produto comercial Nemat® (*Paecilomyces lilacinus*) utilizado no controle positivo, e a testemunha sendo a planta de soja com o nematoide. O delineamento utilizado foi DIC (delineamento inteiramente casualizado), para cada tratamento foram semeados 5 vasos com a cultivar de soja Bramax Desafio RR (8473 RSF), obtendo um total de 55 parcelas. A avaliação do experimento foi realizada aos 60 dias após a inoculação com o nematoide *M. incognita*, sendo avaliados:massa fresca de raiz (MFR), massa seca da parte aérea (MSPA), número de nematoides na raiz (QN) e número de nematoides por grama de raiz (NGR). Para determinar QN e NGR realizou-se a extração dos nematoides do solo e da raiz, submetendo as suspensões à leitura de juvenis e ovos ao microscópio com o auxílio da câmara de Peters. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 0,05 de significância. As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 0,05 de significância pelo programa de análise estatísticas Sisvar. Observou-se que as bactérias MS29, MS14A e MS41C apresentaram efeito nematicida ao se avaliar o QN e o NGR nas plantas de soja inoculadas com *Meloidogyne incognita*, comportando-se semelhante ao efeito do produto comercial Nemat®. Não foi observada correlação positiva quando se comparou QN e MSPA, indicando que novos estudos são necessários.

**Palavras-chave:** *Glycine max* (L.) Merrill; bactérias; controle biológico; nematoide das galhas; *Melipona* sp.

## ABSTRACT

Soybean production faces several challenges, including the attack of pests and diseases, which can cause considerable damage to the plants and reduce crop productivity. Among the pathogens, nematodes represent a significant threat, as they affect the roots and impair the plant's ability to absorb water and nutrients. The objective of this study was to evaluate the nematicidal potential of microorganisms derived from the larval food of *Melipona* bees in the control of *Meloidogyne incognita* in soybean (*Glycine max*) cultivation. The experiment consisted of 11 treatments: nine microorganisms (MS29, MS14A, MQ1B, MS47, MS22, MS11, MQ54B, MS41C, and MS45), the commercial product Nemat® (*Paecilomyces lilacinus*) used as a positive control, and the control treatment, consisting of soybean plants inoculated with the nematode only. A completely randomized design (CRD) was used. For each treatment, five pots were sown with the soybean cultivar Brasmax Desafio RR (8473 RSF), totaling 55 experimental units. The evaluation was carried out 60 days after inoculation with *M. incognita*. The following parameters were assessed: fresh root mass (FRM), shoot dry mass (SDM), total number of nematodes in the root (TNN), and number of nematodes per gram of root (NNGR). To determine TNN and NNGR, nematodes were extracted from both the soil and roots, and the suspensions were analyzed under a microscope using a Peters chamber for counting juveniles and eggs. The data obtained were subjected to analysis of variance (ANOVA) using the F-test at a 0.1 significance level. Means were compared using the Scott-Knott test at a 0.1 significance level, using the Sisvar statistical software. It was observed that the bacterial strains MS29, MS14A, and MS41C exhibited nematicidal effects based on the TNN and NNGR in soybean plants inoculated with *Meloidogyne incognita*, performing similarly to the commercial product Nemat®. No positive correlation was found between TNN and SDM, indicating that further studies are needed.

**Keywords:** *Glycine max* (L.) Merrill; bacteria; biological control; nematode; *Melipona* sp.

## **LISTA DE ILUSTRAÇÕES**

<b>Figura 1:</b> A) Aplicação do Nemat <sup>®</sup> ; B) Aplicação dos microrganismos.....	17
<b>Figura 2:</b> A) Inoculação de <i>M.incognita</i> ; B) Experimento implantado.....	17

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Quadro de análise de variância dos dados provenientes dos onze tratamentos aplicados no sulco de semeadura. Uberlândia – MG, 2023.....	20
<b>Tabela 2:</b> Parâmetros avaliados nas plantas de soja após inoculação com <i>Meloidogyne incognita</i> e aplicação dos tratamentos. Uberlândia – MG, 2023.....	21

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>12</b>
2.1. A cultura da soja .....	12
2.2. Desafios na produção de soja.....	12
2.3. <i>Meloidogyne incognita</i> .....	13
2.4. O alimento larval das abelhas e os microrganismos presentes .....	13
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
3.1. Obtenção dos microrganismos.....	15
3.2. Inóculo de nematoides .....	15
3.3. Validação do potencial nematicida .....	15
3.4. Extração dos nematoides .....	18
3.4.1. Extração dos nematoides na raiz .....	17
3.4.2. Extração dos nematoides do solo .....	17
3.4.3. Contagem dos juvenis .....	19
3.5. Análise estatística .....	19
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>20</b>
<b>5. CONCLUSÕES.....</b>	<b>23</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>24</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A soja [*Glycine max* (L.) Merrill] é uma leguminosa que possui grande relevância mundial, sendo utilizada como insumo na nutrição animal, na alimentação humana e na produção de biocombustíveis (Bandara *et al.*, 2020). É uma das principais *commodities* agrícolas a serem comercializadas no mundo e principal responsável por trazer o conceito de agronegócio ao Brasil, por conta de seu volume físico e financeiro (Voora *et al.*, 2020).

Um dos principais fatores que limitam e reduzem a produtividade da soja é a ocorrência de doenças, pragas e nematoides que afetam a cultura e elevam os custos de produção (Duhatschek *et al.*, 2018). O agronegócio brasileiro responde por perdas de R\$ 35 bilhões, causadas por fitoparasitas anualmente. Na produção de soja, as perdas são estimadas em R\$ 16,2 bilhões, segundo a Sociedade Brasileira de Nematologia (SBN, 2017).

No Brasil, mais de 100 espécies de nematoides, distribuídas entre 50 gêneros, afetam a cultura da soja, com destaque para o gênero *Meloidogyne* e para as espécies *M. javanica* e *M. incognita* predominantes em áreas de cultivo de soja, café e algodão (Dias *et al.*, 2010). O ciclo de vida dos nematoides do gênero *Meloidogyne* começa com a postura dos ovos pela fêmea em uma matriz gelatinosa. Poucas horas após essa deposição, inicia-se o desenvolvimento embrionário, dando origem ao primeiro estágio juvenil (J1). Ainda dentro do ovo, ocorre a primeira muda, originando o segundo estágio juvenil (J2), que é o responsável por eclodir no solo. O J2 migra em direção às raízes das plantas, penetrando e se deslocando entre células ainda não diferenciadas, até alcançar a região de alongamento celular do córtex. Nesse local, o nematoide utiliza seu estilete para injetar substâncias produzidas por suas glândulas esofagianas. Essas secreções induzem alterações nas células do cilindro vascular, que passam a se alongar e a se dividir rapidamente, originando as chamadas "células gigantes" ou células nutridoras. Simultaneamente, há uma intensa multiplicação celular ao redor do nematoide, resultando no engrossamento das raízes e na formação das galhas características. O desenvolvimento continua com mais três mudas sucessivas, passando pelos estágios J3, J4 e finalmente o adulto, que pode ser macho ou fêmea (Machado, 2000).

A diagnose dos sintomas de plantas atacadas por nematoides geralmente está associada ao surgimento de reboleiras, onde as plantas apresentam raquitismo, folhas com aparência "carijó", manchas cloróticas ou necróticas entre as nervuras, além de abortamento de flores e vagens, sendo que nas raízes das plantas atacadas observam-se galhas em número e tamanho variados, dependendo da suscetibilidade da cultivar e da densidade populacional do nematoide no solo (Dias *et al.*, 2010).

O manejo de nematoides na cultura da soja tem sido majoritariamente feito com o uso de nematicidas químicos. No entanto, considerando a necessidade de uma agricultura mais sustentável e o fato de que o custo-benefício desse método nem sempre é vantajoso para o produtor, alternativas de manejo devem ser consideradas. O manejo integrado de nematoides, que combina várias medidas de controle, vem ganhando destaque no Brasil e no mundo. Essas medidas incluem exclusão, rotação de culturas, uso de plantas antagonistas, controle químico, uso de cultivares resistentes e controle biológico (Agrios, 2005).

O controle biológico baseia-se na relação antagônica entre microrganismos e patógenos, podendo envolver diferentes modos de ação, como competição por espaço e nutrientes, antibiose, parasitismo e indução de resistência na planta hospedeira (Moraes, 1991; Melo; Azevedo, 1998; Papavizas, 1985). Mais de 200 organismos são considerados inimigos naturais dos nematoides, incluindo fungos, bactérias, nematoides predadores e ácaros, que têm sido observados predando ou parasitando nematoides (Soares, 2006).

As bactérias do gênero *Bacillus* têm se destacado no mercado, sendo responsáveis por 96 produtos registrados como bionematicidas (Bettoli; Medeiros, 2023). Além disso, pesquisas sobre a diversidade bacteriana do alimento larval de abelhas sem ferrão, tem apresentado potencial nematicida (Santos, 2022; Machado, 1971). Portanto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o potencial nematicida de microrganismos do alimento larval de abelha no controle de *M. incognita* em plantas de soja.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. A cultura da soja

A cultura da soja [*Glycine max* (L.) Merrill] desempenha um papel fundamental na agricultura global, sendo uma das principais fontes de proteína e óleo vegetal. De acordo com o sexto levantamento da Companhia Nacional de Abastecimento (Conab), a safra 2024/25 tem produção estimada de 167.367,1 mil toneladas, 13,3% superior à da safra 2023/24 e 7,5% superior ao recorde da safra 2022/23.

Considerando a economia brasileira, a soja é uma das principais fontes de renda e exportação do país. De acordo com dados da Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE), o setor gera milhões de empregos e movimenta bilhões de reais anualmente, sendo um dos principais pilares da balança comercial do país. A crescente demanda por produtos derivados da soja, como óleo e farelo, reforça sua importância para a segurança alimentar e geração de renda. No entanto, é crucial que a expansão da cultura ocorra de maneira responsável, incorporando práticas sustentáveis que preservem os recursos naturais e garantam a qualidade de vida das comunidades envolvidas (Abiove, 2022).

Além do seu valor nutricional é a capaz de fixar nitrogênio no solo, o que melhora a fertilidade e qualidade do solo para culturas subsequentes. Essa característica faz da soja uma opção vantajosa em sistemas de rotação de culturas, trazendo benefícios tanto para o agricultor quanto para o meio ambiente (Carvalho *et al.*, 2020).

### 2.2. Desafios na produção de soja

A produção enfrenta diversos desafios, como o aumento da incidência de pragas e doenças. O manejo inadequado pode levar à resistência de pragas a pesticidas, resultando em perdas significativas de produtividade. Além disso, a variabilidade climática afeta diretamente a produção, exigindo que os produtores se adaptem rapidamente para garantir colheitas consistentes (Zambolim; Zambolim, 2019).

A ocorrência de nematoides resulta em perdas significativas na produção, devido aos danos às raízes, prejudicando a absorção de água e nutrientes. O manejo integrado de pragas e a seleção de variedades resistentes são estratégias recomendadas para enfrentar essa ameaça, mas o investimento contínuo em pesquisa é essencial para o desenvolvimento de soluções mais eficazes (Almeida *et al.*, 2022).

### **2.3. *Meloidogyne incognita***

A espécie *Meloidogyne incognita*, conhecida como nematoide-das-galhas, causa a formação de galhas nas raízes das plantas, prejudicando diretamente a absorção de água e nutrientes. Isso ocorre porque esses nematoides penetram nos tecidos radiculares e liberam substâncias que induzem a planta a desenvolver tecidos hipertrofiados (galhas) que funcionam como locais de alimentação e proteção para os parasitas. Como consequência, a infestação pode comprometer seriamente a saúde das plantas, levando a uma redução drástica na produtividade e, consequentemente, a perdas econômicas consideráveis. (Oliveira *et al.*, 2020).

A biologia de *M. incognita* é complexa, com um ciclo de vida que varia entre 25 e 45 dias, dependendo de fatores ambientais como temperatura e umidade. Os nematoides se reproduzem por partenogênese, e as fêmeas fixam-se nas raízes, onde se alimentam e produzem ovos. Esse processo pode gerar várias gerações em uma única estação, intensificando os danos às culturas. Além disso, tem grande capacidade de adaptação a diferentes condições de cultivo, o que torna seu manejo ainda mais desafiador (Trudgill; Blok, 2001).

O controle biológico por meio de microrganismos tem ganhado crescente atenção como alternativa sustentável aos métodos tradicionais de controle químico. Microrganismos como fungos do gênero *Trichoderma* e bactérias do gênero *Bacillus* têm demonstrado eficácia na redução das populações de nematoides. Esses organismos atuam competindo no solo e induzindo resistência nas plantas, o que resulta em menor infestação e melhor desenvolvimento das culturas (Nascimento *et al.*, 2021).

O uso de práticas de manejo integrado, que incluem microrganismos benéficos, pode aumentar a eficácia no controle. A combinação de métodos biológicos com a rotação de culturas e o uso de variedades resistentes tem se mostrado uma estratégia eficaz, reduzindo a dependência de agroquímicos e promovendo a sustentabilidade na produção de soja (Cardoso *et al.*, 2022).

### **2.4. O alimento larval das abelhas e os microrganismos presentes**

As abelhas são fundamentais para a polinização, com uma dieta baseada na coleta de néctar e pólen. O néctar, uma solução rica em açúcares produzida pelas flores, é coletado e armazenado nas plantações pelas abelhas até retornarem à colônia. Lá, o néctar passa por processos de desidratação e fermentação, transformando-se em mel, que é a principal fonte de

carboidratos, fornecendo energia para as abelhas (Kerr *et al.*, 1996; Nogueira-Neto, 1997; Vit *et al.*, 2017).

Além do mel, o pólen também desempenha um papel essencial na nutrição das larvas. Após a postura da abelha rainha, uma mistura de pólen, mel e secreções glandulares é depositada nas células de cria e selada até a eclosão dos adultos. Isso garante que as larvas recebam os nutrientes necessários para seu desenvolvimento. A nutrição adequada das larvas é crucial para a saúde e longevidade da colônia, assegurando o desenvolvimento de abelhas fortes e saudáveis (Kerr *et al.*, 1996).

A diversidade de microrganismos associados às colônias de abelhas sem ferrão tem um papel importante na saúde e vitalidade dessas abelhas, uma vez que essa microbiota contribui para o seu desenvolvimento e auxilia em processos fisiológicos, como a digestão. Esses microrganismos mantêm interações complexas, influenciando diretamente sua sobrevivência (Dillon, 2004; Hamdi *et al.*, 2011; Vásquez *et al.*, 2012).

No caso das abelhas sem ferrão, a diversidade bacteriana, especialmente do gênero *Bacillus*, tem despertado grande interesse. Machado (1971) identificou espécies de *Bacillus* no pólen e no alimento larval de diversas espécies de abelhas. Outros estudos revelaram a presença de *Bacillus* sp. no pólen, mel e alimento larval de *Melipona fasciata*, destacando sua capacidade de produzir enzimas digestivas e substâncias antibacterianas (Gilliam *et al.*, 1985; Gilliam; Roubik; Lorenz, 1990; Wang *et al.*, 2015).

Bactérias como *Streptomyces* também foram encontradas nas colmeias de *Melipona* e *Trigona*, produzindo potentes substâncias antimicrobianas. No mel e no intestino anterior, foram identificadas bactérias do gênero *Lactobacillus* e da família Acetobacteraceae, enquanto *Lactococcus* foi detectado no alimento larval de *Melipona seminigra*. Essas bactérias desempenham um papel essencial no processamento do pólen, do néctar e no armazenamento do mel (Cerqueira *et al.*, 2021; Marçal, 2017).

Bactérias dos gêneros *Enterococcus*, *Providencia*, *Serratia* e *Vagococcus* também foram associadas ao alimento larval de *Melipona* e *Tetragonisca*, mostrando atividade antimicrobiana contra patógenos (Santos *et al.*, 2022). Além disso, *Paenibacillus polymyxa* foi encontrado em simbiose com *Bacillus scutellariae*, produzindo moléculas antibacterianas (Menegatti *et al.*, 2018).

No entanto, algumas bactérias podem ser prejudiciais, como *Lysinibacillus sphaericus*, associada à doença das algas tetragonais. Embora avanços tenham sido feitos, o papel específico dessas bactérias na manutenção e desenvolvimento das colônias de abelhas sem ferrão ainda não é totalmente compreendido (Fünfhaus; Ebeling; Genersch, 2018; Shanks *et al.*, 2017).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Obtenção dos microrganismos**

Nove isolados bacterianos codificados (MS29, MS14A, MQ1B, MS47, MS22, MS11, MQ54B, MS41C, MS45) foram obtidos da coleção de microrganismos isolados do alimento larval de abelhas sem ferrão (CoMisBee) do Laboratório de Genética da Universidade Federal de Uberlândia. Os isolados foram cultivados em ágar BHI e incubados por 24 horas a 37 °C. Em seguida, uma alçada da repicagem bacteriana foi transferida para tubos de 50 mL, contendo o meio Luria Berthani (LB) e incubada a 37 °C ±1 por 48 horas sob agitação de 200 rpm.

#### **3.2. Inóculo de nematoides**

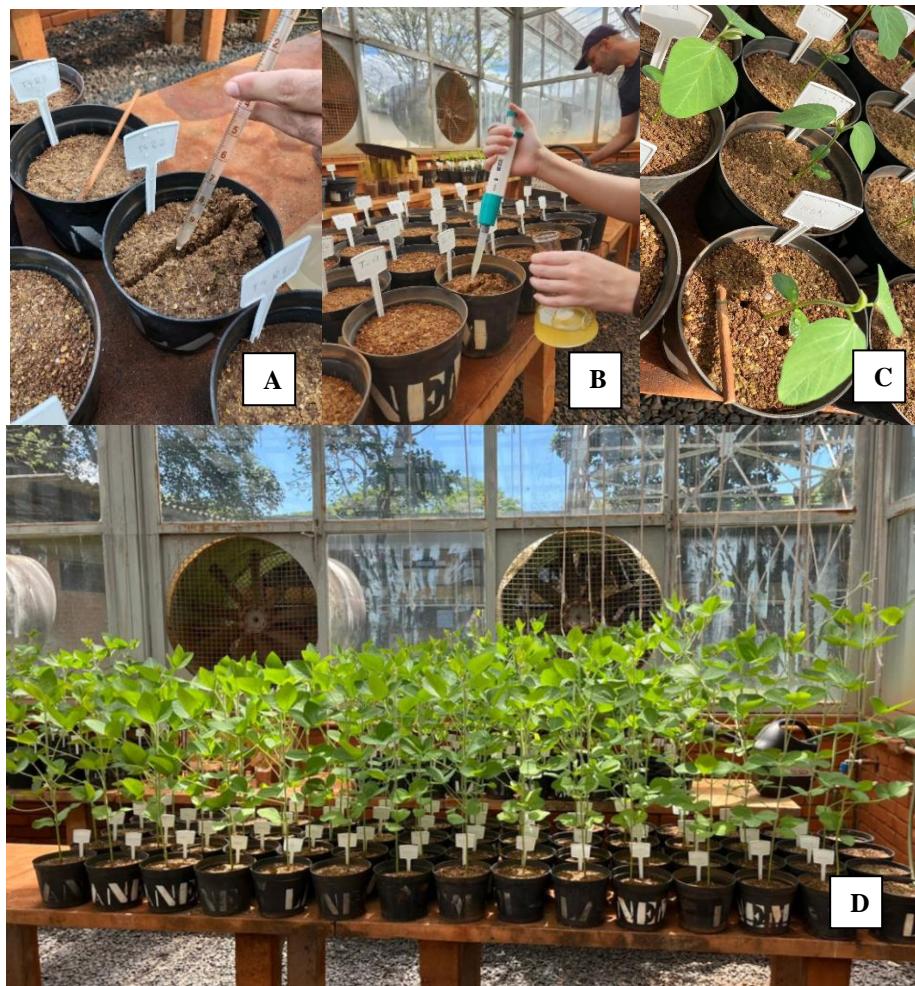
O inóculo inicial de *M. incognita* foi fornecido pelo Laboratório de Nematologia da Universidade Federal de Uberlândia, ele foi multiplicado em cultivares de Tomate Santa Cruz por 60 dias em casa de vegetação. Após esse período, as raízes foram processadas de acordo com a técnica de Boneti e Ferraz (1981), com adaptações. As raízes foram trituradas em um liquidificador por 20 segundos em solução de hipoclorito de sódio a 0,5% e, em seguida, despejadas em peneiras sobrepostas de 100 e 500 mesh. O conteúdo retido na peneira de 500 mesh foi coletado, e a suspensão contendo ovos de *M. incognita* foi ajustada para a concentração desejada.

#### **3.3. Validação do potencial nematicida dos microrganismos**

Para avaliar o potencial nematicida dos microrganismos, foi realizado um experimento em casa de vegetação, no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Campus Umuarama, Uberlândia/MG..

O experimento foi em delineamento inteiramente casualizado, composto de 11 tratamentos, sendo 9 microrganismos (MS29, MS14A, MQ1B, MS47, MS22, MS11, MQ54B, MS41C, MS45), 1 produto comercial e 1 testemunha (planta inoculada com *M. incognita*), sendo 5 repetições para cada tratamento, totalizando 55 vasos. O produto comercial Nemat®, nematicida microbiológico (*Paecilomyces lilacinus*), registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) foi utilizado como controle positivo, de acordo as recomendações da bula.

Os 55 vasos de capacidade de 1,5 L foram preenchidos com uma mistura de areia e argila na proporção de 2:1. O Nemat<sup>®</sup> (Figura 1A) e os microrganismos (Figura 1B) foram aplicados no sulco de plantio antes da semeadura. Em seguida, realizou-se a semeadura da cultivar de soja Brasmax Desafio RR (8473 RSF). Após nove dias, quando as plântulas de soja apresentavam um par de folhas unifolioladas, procedeu-se a inoculação do solo com 10 mL de uma suspensão contendo 500 ovos/mL, totalizando 5.000 ovos de *Meloidogyne incognita* (Figura 2.A). O experimento foi conduzido com regas diárias e monitoramento de plantas invasoras nos vasos (Figura 2.b).



**Figura 1:** Aplicação do Nemat<sup>®</sup> (A); Aplicação dos microrganismos(B); Inoculação de *M.incognita* (C), Experimento implantado (D).

A avaliação do experimento foi realizada 60 dias após a inoculação com o nematoide. A parte aérea das 55 plantas foi cortada e colocada em estufa até a completa remoção da umidade, visando a obtenção da massa seca. As raízes foram separadas do solo, lavadas em

água corrente para aferição de suas massas e armazenadas em copos devidamente identificados com as respectivas parcelas. No solo, foi retirada uma alíquota de 150 cm<sup>3</sup> de cada parcela.

### **3.4. Extração dos nematoides**

#### **3.4.1. Extração dos nematoides na raiz**

De acordo com o método de Bonetti e Ferraz (1981), as amostras de raízes acondicionadas em copos foram submetidas à técnica do liquidificador doméstico. Essa técnica consistiu no processamento das raízes embebidas em uma solução de hipoclorito de sódio a 0,5% por 20 a 30 segundos no liquidificador. As suspensões obtidas foram vertidas em peneiras sobrepostas de 100 e 500 mesh, sendo o material retido na peneira de 500 mesh coletado com o auxílio de uma pisseta e transferido para um copo de 150 mL.

As suspensões foram centrifugadas em tubos de 100 mL a 650 gravidades por cinco minutos, em seguida o sobrenadante foi descartado e adicionado uma a solução de sacarose, composta por 454 g de açúcar e 1 L de água. Em seguida, uma segunda centrifugação foi realizada a 650 gravidades por 60 segundos. As suspensões foram vertidas em peneira de 500 mesh e lavadas com água corrente, recolhendo-se os nematoides retidos, com a ajuda de uma pisseta para um copo devidamente identificado com a parcela.

#### **3.4.2. Extração dos nematoides do solo**

De acordo com o método de Jenkins (1964), uma alíquota de 150 cm<sup>3</sup> de solo foi colocada em um balde de plástico, e adicionou-se de um a dois litros de água. A mistura foi agitada, desmanchando os torrões, e deixada em repouso por 15 segundos. Em seguida, a suspensão foi filtrada através de peneiras sobrepostas de 20 e 400 mesh. O material retido na peneira de 400 mesh foi então recolhido com o auxílio de uma pisseta para um copo de 150 mL.

As suspensões obtidas foram centrifugadas a 650 gravidades por cinco minutos, em seguida o sobrenadante foi descartado e adicionado a solução de sacarose, composta por 454g de açúcar e 1L de água. Após isso, as suspensões foram novamente centrifugadas por 60 segundos, vertidas em uma peneira de 500 mesh e lavadas em água corrente. Os nematoides retidos foram recolhidos com o auxílio de uma pisseta para um copo e identificado conforme a parcela.

### **3.4.3. Contagem dos juvenis**

Os nematoides extraídos do solo e das raízes foram analisados utilizando um microscópio e uma pipeta graduada. Após a homogeneização das amostras com a pipeta, foi coletada uma subamostra de 1 mL e depositada na câmara de Peters. Para determinar a quantidade total de nematoides nas suspensões das parcelas, multiplicou-se o número encontrado em 1 mL pelo volume total presente no copo.

### **3.5. Análise estatística**

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância pelo teste F a 0,05 de significância. As médias foram comparadas pelo teste de Scott-Knott a 0,05 de significância pelo programa de análise estatísticas SISVAR (FERREIRA, 2019).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados obtidos do presente experimento demonstram que os parâmetros Nematoide por Grama de Raiz (NGR), Quantidade de Nematoide (QN) e Massa Seca da Parte Aérea (MSPA) apresentaram diferença estatística significativa ao se avaliar o potencial nematicida de nove microrganismos do alimento larval de abelhas sem ferrão e do produto comercial (Nemat), sendo significativo a 0,05 de probabilidade ( $P<0,05$ ), enquanto que para Massa Fresca de Raiz (MFR) não apresentou diferença estatística significativa (Tabela 1).

**Tabela 1:** Quadro de análise de variância dos dados provenientes dos onze tratamentos aplicados no sulco de semeadura. Uberlândia – MG, 2023.

FV	GL	Quadrados Médios			
		NGR	QN	MFR	MSPA
Trat.	10	168780,47*	80917725,56*	31,89 <sup>ns</sup>	1,00*
Erro	44	2755,24	1189497,15	17,91	0,45
C.V. (%)	-	16,48	16,61	14,00	9,53

\*Significativo a 0,05 de probabilidade ( $P<0,05$ ). <sup>ns</sup>Não significativo. NGR: nematoide por grama de raiz; QN: quantidade de nematoide na raiz; MFR: massa fresca da raiz ( $g.planta^{-1}$ ); MSPA: massa seca da parte aérea ( $g.planta^{-1}$ ).

Em relação ao número de nematoide por grama de raiz (NGR) (Tabela 2), foi observado que houve diferença estatística entre os tratamentos com o uso de microrganismos presentes no alimento larval de abelhas sem ferrão e os controles positivo (Nemat<sup>®</sup>) e negativo (Untreated). Os isolados bacterianos MS29, MS14A e MS41C não diferiram estatisticamente do produto comercial Nemat<sup>®</sup> apresentando maior potencial de controle de *Meloidogyne incognita* por grama de raiz de plantas de soja.

**Tabela 2:** Parâmetros avaliados das plantas de soja, de solo tratado com diferentes microrganismos e inoculado com *Meloidogyne incognita*. Uberlândia – MG, 2023.

Tratamento	NGR	QN	MFR	MSPA
Untreated	531,26 e	19.992,00 f	37,63 a	6,95 a
Nemat <sup>®</sup>	244,82 a	7.080,00 c	28,91 a	6,82 a
MS29	233,39 a	6.840,00 b	29,30 a	6,70 b

MS14A	192,93 a	5.580,00 b	28,92 a	7,14 a
MQ1B	460,95 d	13.068,00 e	28,35 a	5,70 b
MS47	324,96 b	7.740,00 c	23,81 a	6,50 b
MS22	393,22 d	12.240,00 c	31,13 a	7,42 a
MS11	364,02 c	11.160,00 d	30,65 a	7,62 a
MQ54B	321,97 c	10.140,00 d	31,49 a	6,51 b
MS41C	268,43 a	8.640,00 a	32,18 a	6,56 b
MS45	307,68 c	8.880,00 b	28,86 a	6,57 b
<b>CV (%)</b>	<b>16,48</b>	<b>16,61</b>	<b>14,00</b>	<b>9,53</b>

NGR: nematoide por grama de raiz; QN: quantidade de nematoide na raiz; MFR: massa fresca da raiz (g.planta<sup>-1</sup>); MSPA: massa seca da parte aérea (g.planta<sup>-1</sup>). <sup>1</sup>Médias seguidas por letras diferentes, nas colunas, diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 0,1 de significância. Dados transformados com  $\sqrt{x}$ .

Adicionalmente, considerando o número de nematoide na raiz (QN) (Tabela 2), os tratamentos diferiram estatisticamente, evidenciando que os isolados bacterianos MS41C, MS29, MS14A, MS45 reduziram a quantidade de nematoide na raiz, diferindo significativamente do produto comercial Nemat®.

Com relação ao uso de microrganismos, Hallmann *et al.* (2004) sugerem que bactérias endofíticas possuem potencial para o controle de fitonematoídes, especialmente endoparasitas. Em estudo com o cultivo de arroz, Sikora e Padgham (2007) relataram redução de 40% na penetração e formação de galhas de *Meloidogyne graminicola* após a inoculação de *Bacillus megaterium* nas raízes.

Além disso, a colonização das raízes por essa bactéria reduziu em 60% a migração do nematoide para a rizosfera, e seus metabólitos diminuíram em 60% a eclosão dos ovos (Sikora; Padgham, 2007). Ademais, bactérias da rizosfera podem reduzir os danos causados por nematoídes por meio da liberação de toxinas ou da modificação dos exsudatos radiculares. Essas bactérias apresentam fácil crescimento in vitro e podem ser aplicadas no tratamento de sementes (Sikora, 1992).

Considerando a massa fresca de raiz (MFR) (Tabela 2) houve diferença entre os isolados bacterianos MS29, MQ1B, MQ54B, MS41C, MS47, MS45 e a testemunha não tratada. Porém, realizando uma análise em números absolutos para MFR, o tratamento com o isolado MQ1B foi superior.

Para a massa seca da parte aérea (MSPA) (Tabela 2) das plantas de soja não houve diferença significativa entre os tratamentos. Em analogia, Lelis (2024), ao avaliar o potencial bioestimulante de microrganismos provenientes do alimento larval de abelhas sem ferrão na cultura da soja, observou que as bactérias *Pseudomonas* sp. e *Staphylococcus* sp. apresentaram efeito bioestimulante, demonstrado pelo aumento da massa fresca e seca das plantas de soja.

Adicionalmente, Silveira (2021) relatou que microrganismos podem acelerar o crescimento das plantas e do sistema radicular, tanto de forma direta, através da ação de hormônios, quanto de forma indireta, induzindo resistência. Araújo e Marchesi (2009) constataram que bactérias do gênero *Bacillus* são capazes de promover o crescimento das plantas devido à produção de uma grande quantidade de metabólitos.

Em triagens anteriores com os microrganismos do alimento larval de abelha sem ferrão foram encontrados isolados com potencial nematicida, sendo que o isolado bacteriano Mq-MCK-07 apresentou efeito nematicida, reduzindo a população juvenil de segundo estágio (J2), além de inibir a eclosão de ovos de *Meloidogyne incognita* (Costa, 2024) e o isolado foi identificado *Enterococcus faecalis mandacaium* pelo sequenciamento gênico.

## 5. CONCLUSÃO

Os isolados bacterianos MS29, MS14A e MS41C reduziram o número de nematoides na raiz e o número de nematoides por grama de raiz em plantas de soja, apresentando efeito nematicida ao *Meloidogyne incognita*.

## REFERÊNCIAS

- ABIOVE - Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais. **Relatório Anual da Indústria de Óleos Vegetais**. São Paulo: Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais, 2022.
- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**, 5th ed.; Elsevier Academia Press: San Diego, CA, USA, 2005.
- ALMEIDA, R. M. *et al.* Impacto dos nematoides de solo na produção de soja. **Journal of Nematology**, v. 54, n. 4, p. 45-56, 2022.
- ARAUJO, F. F.; MARCHESI, G. V. P. Uso de *Bacillus subtilis* no controle da meloidoginose e na promoção do crescimento do tomateiro. **Ciência Rural**, v. 39 (5): 1558-1561, 2009.
- BETTIOL, W.; MEDEIROS, F. H. V. **Como o Brasil se tornou o maior produtor e consumidor de produtos de biocontrole**. Embrapa, Circular Técnica, 2023.
- BONETI, J. I .S.; FERRAZ, S. Modificação do método de Hussey & Barker para extração de ovos de *Meloidogyne exígua* de raízes de cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.6, p. 553, 1981.
- BRUM, A. L. *et al.* **A economia mundial da soja: impactos na cadeia produtiva da oleaginosa no Rio Grande do Sul 1970-2000**. Anais dos Congressos. XLIII Congresso da Sober em Ribeirão Preto. São Paulo, 2005.
- CARDOSO, A. R. *et al.* Manejo integrado de *Meloidogyne incognita* na cultura da soja. **Agricultura Sustentável**, v. 9, n. 3, p. 210-218, 2022.
- CARVALHO, A. A. *et al.* Importância da soja na fixação de nitrogênio e manejo sustentável. **Revista Brasileira de Agricultura**, v. 95, n. 3, p. 455-465, 2020.
- CERQUEIRA, L. S. *et al.* Lactobacillus e Acetobacteraceae em abelhas sem ferrão. **Revista Brasileira de Apicultura**, v. 14, n. 2, p. 15-25, 2021.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos**, Brasília, DF, v. 11, safra 2023/24, n. 12, décimo segundo levantamento, setembro 2024.
- COSTA, 2024. **Screening of microorganisms isolated from stingless bee's larval food in the biocontrol of *Meloidogyne incognita***. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica) – Instituto de Biotecnologia, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia-MG, 2024.
- DIAS, W. P. *et al.* **Nematóides em soja**: identificação e controle. Londrina: Embrapa Soja, 2010. 8p. (Embrapa Soja. Circular Técnica, 76).
- MACHADO, F. L. **Eficácia de Nematicidas no Controle de *Meloidogyne incognita* na Cultura da Batata**. 2000. 22 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2000.
- DILLON, R. J. *et al.* Microbiota of stingless bees. **Journal of Apicultural Research**, v. 43, n. 3, p. 214-219, 2004.

DUHATSCHEK, E. *et al.* Sensibilidade de isolados de *Phakopsora pachyrhizi* provenientes da região do centro oeste do Paraná a fungicidas. **Summa Phytopathologica**, v. 44, n. 2, p. 193-194, 2018.

FERREIRA, D. F. SISVAR: a computer analysis system to fixed effects split plot type designs. **Brazilian Journal of Biometrics**, [S. l.], v. 37, n. 4, p. 529-535, 2019. DOI: 10.28951/rbb.v37i4.450.

FISHER, I. H. *et al.* Reação do maracujazeiro-amarelo ao complexo fusariose-nematoide de galha. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 2, p. 223-227, 2010.

FÜNFHAUS, A.; EBELING, K.; GENERSCH, E. Pathogenes of honey bees and their implications. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 156, p. 38-44, 2018.

GARCIA, A. P. M. **Microrganismo do alimento larval de abelha sem ferrão no controle de *Meloidogyne incognita***. 2024. 24 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2024.

GILLIAM, M. *et al.* Antibacterial activity of bacteria associated with honey bees. **Apidologie**, v. 16, n. 3, p. 223-230, 1985.

GILLIAM, M.; ROUBIK, D. W.; LORENZ, J. The role of Bacillus in honey bee larval food. **Bee World**, v. 71, n. 2, p. 51-60, 1990.

GOMES, C. B. *et al.* **Levantamento de nematoides fitoparasitas associados a pomares de videira em declínio da Serra Gaúcha**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2009. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 110).

HALLMANN, J. *et al.* Endophytic bacteria and biological control of nematodes. **Bulletin OILB/SROP**, v. 27, n. 1, p. 83-94, 2004.

HAMDI, C. *et al.* Diversity of microorganisms associated with stingless bees. **Microbial Ecology**, v. 62, n. 2, p. 373-381, 2011.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal-flotation technique for separating nematodes from soil. **Plant Disease Reporter** 48:692, 1964.

KERR, W. E. *et al.* O mel e suas propriedades. **Revista da Sociedade Brasileira de Apicultura**, v. 2, n. 1, p. 1-8, 1996.

LELIS, M. G. de O. **Microrganismos bioestimulantes de alimento larval de abelhas sem ferrão na cultura da soja**. 2024. 27 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2024.

MACHADO, A. B. B. Bactérias do gênero Bacillus em abelhas sem ferrão. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 1, n. 1, p. 55-60, 1971.

MACHADO, J. O. Simbiose entre as abelhas sociais brasileiras (Meliponinae, Apidae) e uma espécie de bactéria. **Ciência e Cultura**, v. 23, n. 5, p. 625-633, 1971.

- MARÇAL, R. S. Caracterização de *Lactococcus* em *Melipona seminigra*. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 39, n. 3, p. 289-295, 2017.
- MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Ecologia Microbiana**. Embrapa-DNPMA, p. 393-419, 1998.
- MENEGATTI, R. *et al.* Symbiosis of *Paenibacillus polymyxa* with *Melipona scutellaris*. **Journal of Apicultural Research**, v. 57, n. 4, p. 487-493, 2018.
- MORAES, G. J. Controle biológico dos ácaros fitófagos. **Informe agropecuário**, 15: 55-62, 1991.
- NASCIMENTO, R. C. *et al.* Controle biológico de *Meloidogyne incognita* utilizando microrganismos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 46, n. 1, p. 72-78, 2021.
- NOGUEIRA-NETO, P. **Biologia das abelhas**. São Paulo: Editora Politécnica, 1997.
- OLIVEIRA, R. S. *et al.* *Meloidogyne incognita*: biologia e controle. **Revista Brasileira de Nematologia**, v. 44, n. 2, p. 145-152, 2020.
- PAPAVIZAS, G. C. Trichoderma and Gliocladium: biology, ecology and potential for biocontrol. **Annual Review of Phytopathology**, 53, 1985.
- SANTOS, A. C. C. **Microbioma do alimento larval de abelhas sem ferrão: diversidade e potencial biotecnológico**. 2022. 80 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Bioquímica) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2022.
- SANTOS, M. A. *et al.* Antimicrobial activity of bacteria in honey bee larval food. **Apidologie**, v. 53, n. 4, p. 554-563, 2022.
- SHANKS, G. *et al.* Pathogenicity of *Lysinibacillus sphaericus* in stingless bees. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 83, n. 10, e00105-17, 2017.
- SIKORA, R. A. Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological control of plant-parasitic nematodes. **Annual Review of Phytopathology**, n. 30, p. 245-270, 1992.
- SIKORA, R. A.; PADGHAM, J. L. Biological control potential and modes of action of *Bacillus megaterium* against *Meloidogyne graminicola* on rice. **Crop Protection**, v. 26, n. 7, p. 971-977, 2007.
- SILVA, A. C. da I. A importância da soja para o agronegócio brasileiro: uma análise sob o enfoque da produção, emprego e exportação. **V Encontro de Economia Catarinense**, 2011.
- SILVEIRA, R. S. da. **Importância e manejo de nematoides em lavouras de soja no Brasil e perspectivas futuras**. 2021. 62 f.. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2021.
- SOARES, P. L. M. **Estudo do controle biológico de fitonematoides com fungos nematófagos**. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2006, 217 p.

TRUDGILL, D. L.; BLOK, V. The biology and identification of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). **Nematology**, v. 3, n. 3, p. 885-895, 2001.

VÁSQUEZ, A.; OLOFSSON, T. The role of Lactobacillus in honey bees. **FEMS Microbiology Letters**, v. 290, n. 1, p. 9-16, 2009.

VIT, P. E. *et al.* **Meliponicultura: biologia e manejo das abelhas sem ferrão**. Brasília: Embrapa, 2013.

WANG, H. *et al.* Functional roles of Bacillus in honey bee health. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 131, p. 34-40, 2015.

ZAMBOLIM, L.; ZAMBOLIM, E. M. Manejo de pragas na cultura da soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 54, n. 1, p. 22-31, 2019.