

Antagonismo de bactérias diazotróficas isoladas de plantas de milho no biocontrole de fitopatógenos

Tauane Santos Brito¹; Wallace Ferreira de Lima²; Renan Pan¹; Magno Daniel Porfírio¹; Kelly Thais Canello²; Elisiane Inês Dall'Oglio Chaves²

Resumo: Bactérias diazotróficas podem atuar de maneira antagonista sobre a atividade fúngica de patógenos de interesse, mostrando-se uma alternativa em relação ao uso de compostos químicos na cultura do milho. O objetivo do experimento foi avaliar a inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos utilizando bactérias diazotróficas isoladas da cultura do milho, além de avaliar a inibição de crescimento das mesmas pelo uso de antibióticos. Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, com três estirpes bacterianas (*Acinetobacter johnsonii*, *Burkholderia ambifaria* e *Burkholderia* sp.) e quatro espécies fúngicas (*Giberela zae*, *Macrophomina phaseolina*, *Bipolaris sorokiniana* e *Colletotrichum musae*), com três repetições. O antibiograma foi realizado com avaliação do desenvolvimento de bactérias em meio de cultura na presença discos de antibióticos. O antagonismo das estirpes bacterianas foi testado em relação a fungos fitopatogênicos, *in vitro*. A ação antagonista das bactérias contribuiu para a redução do crescimento fúngico. Dentre as bactérias testadas a bactéria *Burkholderia* sp. foi a estirpe que se destacou na inibição de crescimento fúngico. No teste de antibiograma os antibióticos inibiram o crescimento das bactérias testadas. Dentre os testes realizados o antibiótico que obteve melhor desempenho inibindo o crescimento das bactérias testadas foi o ciprofloxacina e o com menor inibição a eritromicina.

Palavras-chave: Antibiograma; controle alternativo; *Burkholderia* sp.

Antagonism of diazotroph bacteria isolated from corn plants on the phytopathogen biocontrol

Abstract: Diazotrophic bacteria can act as an antagonistic way on the fungus activity of pathogens of interest, showing an alternative in relation to the use of chemical compounds on corn crops. The objective of this research was to evaluate the inhibition of the phytopathogenic fungus development by using diazotroph bacteria isolated from corn and to evaluate its inhibition by using antibiotics. A completely randomized design was used, with three bacterial strains (*Acinetobacter johnsonii*, *Burkholderia ambifaria* and *Burkholderia* sp) and four fungal species (*Giberela zae*, *Macrophomina phaseolina*, *Bipolaris sorokiniana* and *Colletotrichum musae*), with three replicates. The antibiogram was performed evaluating the bacteria development on culture medium with antibiotic discs. The antagonism of the bacteria strains was tested on phytopathogenic fungus *in vitro*. The antagonistic effect of the bacteria contributed to the decrease of the fungus growth. Among the tested bacteria the *Burkholderia* sp. was the strain that showed more inhibition on the fungus growth. On the antibiogram test the antibiotic used on the essay inhibited the growth of the tested bacteria. Among the performed tests the one with the antibiotic ciprofloxacin obtained the best performance inhibiting the bacteria growth and the antibiotic erythromycin had shown the fewest inhibition.

¹ Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, Brasil. tauane-brito@hotmail.com; renan_pan@hotmail.com; magnoporfrio@gmail.com.

² Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Toledo, Brasil. limawalla@hotmail.com; kelly_canello@hotmail.com; elisiane.oglio@pucpr.br

Key words: Antibiógram, alternative control, *Burkholderia* sp.

Introdução

Pesquisas quanto à fisiologia e adaptabilidade fizeram com que a cultura do milho (*Zea mays* L.), em aproximadamente 20 anos, deixasse de ser considerada rústica, passando a ser denominada melhorada, considerando as características relativas à susceptibilidade a patógeno. O final da década de 1990 foi decisivo para a grande mudança dos fatores limitantes da cultura, onde as doenças passaram a ser consideradas entre os principais fatores limitantes em produtividade (COTA *et al.*, 2013).

De uso diversificado, o milho é empregado na alimentação humana e animal, como cereal com maior produção em volume, 70% deste material origina-se de produtores dos Estados Unidos, China, Brasil e Argentina (DUARTE *et al.*, 2015). O alto rendimento da cultura se deve ao avanço no programa de melhoramento de plantas, devido a recursos relacionados à biotecnologia, adubação, controle de praga, doenças e plantas daninhas, além de melhor uso de características inerentes da cultura, referentes à adaptabilidade (BATISTA *et al.*, 2012).

A evolução do sistema de produção veio atrelada ao avanço na variedade e intensidade de patógenos, onde o aumento da produtividade por fatores genéticos, alterados antropicamente, refletiram indiretamente na severidade de doenças, quando doenças fúngicas se apresentam em destaque como causadoras de perdas em produtividade (CASA *et al.*, 2004).

A resistência de patógenos a métodos de controle geralmente é consequência do uso incorreto de métodos de controle. O controle biológico de patógenos é indicado para todas as culturas, conservando características naturais e garantindo danos mínimos ao ambiente, sem afetar organismos naturalmente presentes na área. Além disso, métodos de controle alternativos reduzem contaminação ambiental por resíduos de agroquímicos, além de reduzir os gastos do produtor (CASA *et al.*, 2007).

Processo natural em um ecossistema equilibrado, o controle biológico regula o número de plantas e animais utilizando inimigos naturais, estratégia que vem sendo aplicada contra patógenos, pragas e plantas daninhas. Essa técnica pode ser exemplificada pelo uso de bactérias sob atividade fúngica, em que, antagonicamente, o desenvolvimento bacteriano inibe o desenvolvimento de outro microrganismo patogênico, se destacando como alternativa ao uso de compostos químicos (SANTOS; VARAVALLO, 2011).

Antibióticos são compostos naturais ou sintéticos com a capacidade de inibir o desenvolvimento ou causar a morte de microrganismos. Em caso de bactérias, podem ser classificados como bactericidas, quando causam a morte do microrganismo, ou bacteriostáticos, quando promovem a inibição do crescimento microbiano (GUIMARAES *et al.*, 2010).

O antibiograma é utilizado como um ensaio onde se mede a susceptibilidade e/ou resistência de uma bactéria a um ou mais agentes antimicrobianos, visando à análise do espectro de sensibilidade e/ou resistência a antibióticos de uma bactéria. Desta forma, o objetivo do experimento foi avaliar a inibição do desenvolvimento de fungos fitopatogênicos utilizando bactérias diazotróficas isoladas da cultura do milho, além de avaliar a inibição de crescimento das mesmas pelo uso de antibióticos.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido nos laboratórios de Biotecnologia, Microbiologia e Fitopatologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUCPR), Campus Toledo. Os fitopatógenos foram cedidos pelo laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Campus Marechal Cândido Rondon. As cepas bacterianas foram cedidas pela Universidade Federal do Paraná (UFPR), Setor Palotina. Os microrganismos foram mantidos por meio de sucessivas replicações em meio de cultura sólido específico a 28°C durante o experimento.

A avaliação do potencial do controle *in vitro*, antagonismo, das cinco espécies bacterianas contra cinco espécies de fitopatógenos, foi realizada através do método de culturas pareadas (CORRÊA *et al.*, 2007), que consiste na confrontação direta dos microrganismos em meio de cultura sólido durante período específico e posterior análise de inibição de um microrganismos em relação a outro.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), utilizando-se três estirpes bacterianas (*Acinetobacter johnsonii*, *Burkholderia ambifaria* e *Burkholderia* sp.) e quatro espécies fúngicas (*Giberela zae*, *Macrophomina phaseolina*, *Bipolaris sorokiniana* e *Colletotrichum musae*), com três repetições.

Um disco de micélio do fitopatógeno, de cinco milímetros de diâmetro, foi depositado no centro da uma placa de Petri, contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar). Para preparação das suspensões de microrganismos, em câmara de fluxo laminar contínuo, foram alçadas colônias bacterianas de um meio seletivo, conforme característica de cada espécie, e

estas foram ressuspensas em solução salina autoclavada a 0,9%. Em quatro pontos equidistantes do disco do micélio, foi pipetado 10 µL de suspensão de cada bactéria testada como provável antagonista (ROMEIRO, 2010).

Após sete dias de incubação, à 25°C ± 2 em estufa tipo B.O.D com escuro contínuo, mediu-se o diâmetro do micélio do fitopatógeno na presença e ausência da estirpe antagonista, com o auxílio do paquímetro. Com esse dado, a inibição dos fitopatógenos foi estimada, utilizando-se o cálculo matemático: zona de inibição (ZI), em percentual de inibição (%), conforme a fórmula a seguir:

$$(ZI) = (N1-N2) / N1 \times 100$$

Cuja variável N1, corresponde ao diâmetro da colônia encontrado na ausência do antagonista, e N2 corresponde ao crescimento da colônia na presença do antagonista, de acordo com a metodologia de Duarte *et al.*, 2010.

Para a realização do teste de antibiograma foram utilizadas sete estirpes bacterianas: *Agrobacterium tumefaciens*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia sp.*, *Acinetobacter johnsonii*, *Burkholderia ambifaria*, *Enterobacter asburiae* e *Burkholderia sp.* endofíticas isoladas de plantas de milho. Essas foram testadas com cinco antibióticos: amoxilina, ciprofloxacina, eritromicina, tetraciclina e vancomicina.

Tabela 1 – Sensibilidade de discos de antibióticos de acordo com a metodologia de Bauer *et al.* (1966).

Antibiótico	Concentração	Sigla	Padrão interpretativo Zona de inibição em mm		
			Resistente	Intermediário	Sensível
AMOXILINA	10 mcg	AMO			
BGN entéricos			11 ou -	12 a 13	14 ou +
Estafilococos			20 ou -	21 a 28	29 ou +
<i>Haemophilus sp</i>			19 ou -	-	20 ou +
CIPROFLOXACIN	5 mcg	CIP	15 ou -	16 a 20	21 ou +
ERITROMICINA	15 mcg	ERI	13 ou -	14 a 22	23 ou +
TETRACICLINA	30 mcg	TET	14 ou -	15 a 18	19 ou +
VANCOMICINA	30 mcg	VAN			
Esterococos			14 ou -	15 a 16	17 ou +
Para outros org. Gram positivos			09 ou -	10 a 11	12 ou +

Previamente, os frascos contendo discos de antibióticos foram retirados para geladeira, para aclimação de 20 a 30 minutos, para atingirem a temperatura ambiente antes da implantação do experimento.

Utilizando alça de bacteriológica de platina, flambada e resfriada, foi coletado uma colônia bacteriana do meio de cultura sólido específico e depositada em microtubo eppendorf

contendo solução salina autoclavada a 0,9%. Após, o microtubo foi comparado a um tubo aferido na escala 0,5 de Mac Farland. Após comparação, foi pipetado 100 µL de suspensão bacteriana e depositado em placa de Petri contendo meio de cultura DYGS solido. Com o auxilio de uma alça de Drigalski, a suspensão bacteriana foi suavemente espalhada em todas as direções da placa, abrangendo toda a superfície.

Após 15 minutos, período necessário para a secagem da suspensão bacteriana sob o meio de cultura solido, com o auxilio de uma pinça flambada e resfriada, depositou-se os discos dos antibióticos correspondentes a cada tratamento na superfície do meio de cultura inoculado, realizando leve pressão para a boa adesão dos discos a superfície. Em seguida, as placas foram incubadas em estufa bacteriológica, no escuro, a 36°C por 24 horas.

Utilizando paquímetro, após as 24 horas de incubação, mediu-se o diâmetro dos halos inibitórios de cada disco antibiótico, consultando posteriormente a tabela de sensibilidade de antibióticos (Tabela 1) para determinar o nível de sensibilidade bacteriana como sensível, intermediária ou resistente, de acordo com o antimicrobiano testado.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e quando significativos as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa CoStat (COHORT SOFTWARE, 2003).

Resultados e Discussão

O teste de antagonismo comparou a ação de bactérias de interesse, devido ao seu potencial diazotrófico, contra fungos patogênicos comuns na cultura do milho, buscando técnicas alternativas de controle.

Os dados presentes na tabela 2 apresentam que o teste com a bactéria *A. jonhsonii*, apresentou inibição de crescimento para o fungo *G. zeae*, de 31%, não houve ação antagonista sob o desenvolvimento de *M. phaseolina*, *C. musae* e *B. sorokiniana*. Para a bactéria *B. ambifaria* os fungos que apresentaram a maior zona de inibição de crescimento, segundo análise estatística, foram os *B. sorokiniana* (50%) e *G. zeae* (36%), os fungos *M. phaseolina* e *C. musae* não tiveram o seu desenvolvimento inibido pela presença da bactéria diazotrófica. Em relação à bactéria *Burkholderia sp.* os fungos *C. musae*, *M. phaseolina* e *G. zeae* apresentaram a maior zona de inibição em relação a presença bacteriana, 36%, 26% e 32%, respectivamente.

Tabela 2 - Ação antagonica *in vitro* das bactérias diazotróficas contra fungos fitopatogênicos variados, resultados expressos em milímetros (mm) de inibição do crescimento das estruturas fúngicas.

Fitopatógenos	Bactérias			Média
	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	<i>Burkholderia ambifaria</i>	<i>Burkholderia</i> sp.	
<i>C. musae</i>	0 bB	0 cB	36 aA	12
<i>B. sorokiniana</i>	0 bC	50 aA	22 cB	24
<i>M. phaseolina</i>	0 bB	0 cB	26 bcA	9
<i>G. zeae</i>	31 aA	31 bA	32 abA	31
Média	8	20	29	19

Médias seguidas da letra maiúsculas representam a diferença entre as colunas e da letra minúscula representam a diferença na linha, letras iguais representam tratamentos que não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

A capacidade de inibição do desenvolvimento, por ação bacteriana, de diferentes espécies de isolados fúngicos, que atacam diferentes culturas, é de suma importância para destacar a importância desses microrganismos. Mariano *et al.* (2004), pesquisando o antagonismo entre bactérias endofíticas e fungos fitopatogênicos, destacam que certos grupos de microrganismos podem beneficiar a cultura de maneiras mais abrangente, como a produção de fitohormônios, tolerância a estresse, entre outros, assim, o controle alternativo de fitopatógenos é apenas um dos muitos potenciais.

O fungo *G. zeae* foi o que apresentou inibição do crescimento com utilização de todas as bactérias em estudo, com percentual de inibição variando de 31% a 32%. A bactéria que apresentou maior potencial de supressão dos fitopatógenos estudados foi a *Burkholderia* sp. com uma média de 29% e a que apresentou menor potencial de supressão dos fitopatógenos estudados foi a *A. johnsonii* com 8%.

Testando isolados de *Bacillus* spp. em ação antagonista ao *Fusarium oxysporum* e *fusarium* sp., Oliveira *et al.* (2011), relatam que espécies bacterianas dentro do mesmo gênero podem responder de maneiras distintas na supressão do desenvolvimento fúngico. Esses dados corroboram com o presente trabalho, uma vez que ocorreram amplas diferenças na supressão do crescimento fúngico em testes com as bactérias *B. ambifaria* e *Burkholderia* sp., apesar de variarem apenas em espécie. Destaca-se o relatado por Silva *et al.* (2004), em que há produção de compostos variados entre as bactérias atuou na inibição do crescimento fúngico.

Ikeda (2004) testou a produção de enzimas da estirpe bacteriana *Burkholderia* sp. e detectou a produção de sideróforos, celulase, lipase, pectinase, protease e uréase. Esses metabolitos destacam bactérias do gênero *Burkholderia* como alternativas promissoras para o

controle biológico, devido a produção de enzimas responsáveis pela quebra de estruturas fitopatogênicas (PASCHOLATI *et al.*, 2008).

Testando quarenta isolados bacterianos endofíticos de plantas sadias de tomateiro, Barretti *et al.* (2009) buscou potenciais agentes de biocontrole para patógenos de solanáceas. *Pseudomonas syringae* e *Alternaria solani* foram os patógenos desafiadores, baseando-se no nível de dano por planta, *Acinetobacter johnsonii*, *Serratia marcescens*, *Sinorhizobium sp.* e *Bacillus megaterium* se destacaram como potenciais agentes de biocontrole para os patógenos, reduzindo área e número de lesões nas plantas tratadas.

Em relação aos testes de antibiograma foi testado a ação de cinco antibióticos no desenvolvimento de sete bactérias com potencial diazotrófico de interesse, por meio de mensuração de seus halos inibitórios.

Ao observar os dados contidos na tabela 3, com relação aos antibióticos tetraciclina e vancomicina, a bactéria *Burkholderia sp.* foi resistente com um halo de média de (11mm) para a tetraciclina e (0mm) para vancomicina, todas as demais bactérias foram consideradas sensíveis.

Tabela 3 - Ação antibiograma *in vitro* dos antibióticos contra gêneros de diferentes bactérias diazotróficas, resultados expressos em milímetros (mm) de inibição do crescimento das bactérias.

Antibióticos	Bactérias							Médias
	2	26	36	80	87	91	122	
Tetraciclina	20 abABC	22 cAB	21bcABC	19abBC	19aC	22 bA	11bD	19
Vancomicina	18 bBC	24bcAB	19 cABC	24 aA	16aC	22bABC	0 cD	18
Ciprofloxacin	22 aB	31 aA	24 abB	20 abB	13bC	32 aA	20aB	23
Amoxilina	21 abBC	27 bA	28 aA	16 bC	7 cD	25bABC	0 cE	17
Eritromicina	21 abAB	20 cAB	20 bcB	14 bC	7 cD	24 bA	0 cE	15
Média	20	25	22	19	12	25	6	19

Médias seguidas da letra maiúsculas representam a diferença entre as colunas e da letra minúscula representam a diferença na linha, letras iguais representam tratamentos que não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade. Legenda: 2- *Agrobacterium tumefaciens*, 26- *Escherichia fergusonii*, 36- *Escherichia fergusonii*, 80- *Acinetobacter johnsonii*, 87- *Burkholderia ambifaria*, 91- *Enterobacter asburiae* e 122- *Burkholderia sp.*

A tetraciclina é um bacteriostático de amplo espectro e a ação bacteriostática é caracterizada pelo bloqueio do crescimento da população bacteriana, no entanto sem a capacidade de eliminá-la, diante disso Andrade (2002) observou que houve ação bacteriostática nas bactérias *Agrobacterium tumefaciens*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia*

sp., *Acinetobacter johnsonii*, *Burkholderia ambifaria*, *Enterobacter asburiae*, e que, a bactéria *Burkholderia sp.* foi a única a apresentar resistência ao antibiótico.

É rara a resistência adquirida à vancomicina, assim, essa destaca-se como uma das poucas opções terapêuticas para o controle de bactérias super resistentes (SPINOSA *et al.*, 2002). Os resultados obtidos no trabalho se apresentam de acordo com o citado por Spinosa *et al.* (2002), podendo-se observar a rara resistência a vancomicina, pois dentre as sete bactérias testadas apenas duas foram resistentes a ação do antibiótico, *Burkholderia ambifaria*, *Escherichia sp.*

A eritromicina é um antimicrobiano considerado bacteriostático, que atua inibindo a síntese de proteínas de microrganismos sensíveis (DE LEENER *et al.*, 2004). Dentre os resultados do experimento a eritromicina desempenhou ação bactericida de forma que a maior parte das bactérias manifestaram sensibilidade ao antibiótico: *Agrobacterium tumefaciens*, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia sp.* *Enterobacter asburiae*, Contudo, foi observada apenas ação bacteriostática sobre as bactérias *Acinetobacter johnsonii*, *Burkholderia ambifaria* e *Burkholderia sp.*

Para o antibiótico ciprofloxacina pode-se observar que a bactéria *Burkholderia ambifaria*, foi resistente ao antibiótico com a média do halo de (13mm), e as bactérias *Burkholderia sp.*, *Acinetobacter johnsonii*, *Agrobacterium tumefaciens* e *Escherichia fergusonii* tiveram uma média de halo de (20mm) sendo assim classificadas como intermediárias. As bactérias *Escherichia sp.* e *Enterobacter asburiae* foram classificadas como sensíveis.

A ciprofloxacina inibe a enzima DNA-girase, que tem função essencial para replicação, transcrição e reparação do DNA bacteriano (BLONDEAU, 2004). Neste estudo, a ciprofloxacina apresentou maior eficiência no controle das bactérias dentre os antibióticos testados, possivelmente devido sua ação bactericida, causada pela inibição da replicação do DNA.

Para o teste do antibiótico amoxicilina a bactéria *Burkholderia sp.* foi a que apresentou maior resistência, em seguida a *Burkholderia ambifaria*, já a bactéria *Acinetobacter johnsonii* um halo intermediário e as demais bactérias sensíveis ao antibiótico.

A amoxicilina atua nas proteínas de ligação presentes na superfície da membrana plasmática bacteriana, onde, após sua entrada no meio bacteriano, ocorre o bloqueio da síntese da parede bacteriana por interferência do anel beta-lactâmico, resultando em lise da parede celular por desequilíbrio osmótico (ORTIZ *et al.*, 2006).

Conclusões

Pode-se observa na ação antagonica que as bactérias contribuíram para a redução do crescimento fúngico. Dentre as bactérias testadas a bactéria *Burkholderia* sp. foi a estirpe que mais se destacou na inibição de crescimento fúngico e a estirpe *A. johnsonii* sendo a que menos se destacou.

No teste de antibiograma, os antibióticos tiveram bons resultados na inibição do crescimento das bactérias. O antibiótico que obteve melhor desempenho inibindo o crescimento das bactérias testadas foi o ciprofloxacina e o com menor desempenho a eritromicina.

Referências

- ANDRADE, S.P. **Manual de terapêutica veterinária**. 2. ed. São Paulo: Rocca, 2002, 697p.
- BARRETTI, P. B.; ROMEIRO, R. S.; MIZUBUTI, E. S. G.; DE SOUZA, J. T. Seleção de bactérias endofíticas de tomateiro como potenciais agentes de biocontrole e de promoção de crescimento. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 33, p. 2038-2044, 2009.
- BATISTA, K. DUARTE, A. P.; CECCON, G.; DE MARIA, I. C.; CANTARELLA, H. Acúmulo de matéria seca e de nutrientes em forrageiras consorciadas com milho safrinha em função da adubação nitrogenada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n. 10, p. 1154-1160, 2012.
- BAUER, A. W. KIRBY, W. M.; SHERRIS, J. C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American journal of clinical pathology**, v. 45, n. 4, p. 493, 1966.
- BLONDEAU, J. M. Current issues in the management of urinary tract infections extended-release ciprofloxacin as a novel treatment option. **Drugs**, v. 64, n. 6, p. 611-629, 2004.
- CASA, R. T. REIS, E. M.; BLUM, M. M. C. Quantificação de danos causados por doenças em milho. In: **I Workshop de Epidemiologia de Doenças de Plantas, Viçosa. Anais, UFV**. 2004. p. 01-15.
- CASA, R. T.; BOGO, A.; MOREIRA, E. N.; JUNIOR, P. R. K. Época de aplicação e desempenho de fungicidas no controle da giberela em trigo. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.6, p.1558-1563, 2007.
- COHORT SOFTWARE. **CoStat**. Monterey, California. 2003.
- CORRÊA, S.; MELLO, M.; AVILA, Z. R.; BRAUNA, L. M.; PADUA, R. R.; GOMES, D. Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. **Fitosanidad**, v. 11, n. 1, 2007.

COTA, L. V.; COSTA, R. V.; SABATO, E. O.; SILVA, D. D. Histórico e perspectivas das doenças na cultura do milho. **Embrapa Milho e Sorgo-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 2013.

DE LEENER, E.; MARTEL, A.; DECOSTERE, A.; HAESEBROUCK, F. Distribution of the erm (B) gene, tetracycline resistance gene, and Tn 1545-like transposons in macrolide – and lincosamide – resistant enterococci from pigs and humans. **Microbial drug resistance**. V. 10, n. 4 p. 341-345, 2004.

DUARTE, E. S. ASSIS, N. R. F.; CHICATA, F. F. S. L.; COSTA, R. V.; VIANA, J. H M.; MARRIEL, I. E. Prospecção de comunidade bacteriana para biocontrole de *Colletotrichum sublienum* agente causal da antracnose no sorgo. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 28., 2010, Goiânia. **Anais...** Goiânia: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2010. p. 785 – 789.

DUARTE, J. O.; MATTOSO, M. J.; GARCIA, J. C. Milho: importância socioeconômica. **Agência Embrapa de Informação Tecnológica**, v. 20, 2015.

GUIMARAES, D. O.; MOMESSO, L. S.; PUPO, M. T. Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agente. **Química Nova**, vol. 33, No. 3, 667679, 210.

IKEDA, A. C. **Bioprospecção e Identificação de Bactérias Isoladas de Raízes de milho (*Zea mays* L.) para Promoção de Crescimento Vegetal e Controle Biológico**. 2014. 94f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Genética. Curitiba-PR, 2014.

MARIANO, R. L. R.; SILVEIRA, E. B.; ASSIS, S. M. P.; GOMES, A. M. A.; NASCIMENTO, A. R. P.; DONATO, V. M. T. S. Importância de bactérias promotoras de crescimento e de biocontrole de doenças de plantas para uma agricultura sustentável. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, Recife, v. 1, p. 89-111, 2004.

OLIVEIRA, L. J. M. G.; SILVA, M. S. B. S.; LIMA, O. D. R.; ROCHA, E. R. C.; SANTOS, L. V. S.; RODRIGUES, A. A. C. Avaliação in vitro do antagonismo de *Bacillus* spp. a *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopercisi*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AGROECOLOGIA, 7, 2011, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza, 2011. p. 1-5.

ORTIZ A. P.; REIS, F.; FERRAZ, L. F. C.; GERRITS, M. M.; MENDONÇA, S.; KUSTERS, J.; OTTOBONI, L. M. M.; RIBEIRO, M.; JOSE, P. Differentialy expressed genes in responses to amoxicillin in *heliobacter pylori* analyzed by RNA arbitranily primed PCR. **Fems. Immunol med microbial**, v. 50, p. 226-30, 2006.

PASCHOLATI, S.F.; LEITE, B.; STANGARLIN, J.R. & CIA, P. **Interação planta-patógeno. Fisiologia, bioquímica e biologia molecular**. Piracicaba, Fealq, 2008. 627 p

ROMEIRO, R. S. **Métodos em bacteriologia de plantas**. Viçosa: UFV, 2010. 279p.

SANTOS, T. T.; VARAVALLO, M. A. Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 32, n. 2, p. 199-212, 2011.

SILVA, H. S. A.; ROMEIRO, R. S.; MACAGNAN, D.; HALFELD-VIEIRA, B. A.; PEREIRA, M. C. B.; MOUNTEER, A. Rhizobacterial induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and enzyme activities. **Biological Control**, v.29, p.288-295, 2004.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 752p.