

# CARACTERIZAÇÃO E PROSPECÇÃO DE ACTINOBACTÉRIAS PARA O BIOCONTROLE *IN VITRO* DE *Fusarium verticillioides*, AGENTE CAUSAL DA FUSARIOSE EM MILHO (*Zea mays* L.)

Alessandra Silvério de Oliveira<sup>1</sup>

João Carlos Maia Dornelas de Oliveira<sup>2</sup>

## RESUMO

A cultura do milho é muito susceptível a várias doenças, devido sua exposição a diferentes condições climáticas, fator que favorece a contaminação por fungos, responsáveis por grandes perdas na produtividade. Um dos principais fitopatógenos do milho é o *Fusarium verticillioides*, causador da fusariose e produtor de micotoxinas. O potencial de alguns microrganismos como agentes de controle de patógenos causadores de doenças em culturas, é usado como um mecanismo de biocontrole bastante promissor. As actinobactérias possuem uma diversidade metabólica que as permite adaptação a diferentes meios e capacidade relevante em produzir diversas substâncias ativas de interesse agrícola. Assim sendo, o objetivo do presente trabalho foi isolar e selecionar actinobactérias de solo do cerrado com atividade antagonica para o biocontrole de *F. verticillioides*. A amostra de solo foi processada e homogeneizada com posterior plaqueamento em meio de cultura sólido para isolamento e caracterização morfológica das actinobactérias. Em seguida foi realizado teste de antagonismo frente a *F. verticillioides* pelo método de cultura pareada. Os resultados mostraram alta variabilidade macro e micromorfológica entre os 20 isolados obtidos da amostra de solo do cerrado, demonstrando que os microrganismos isolados sejam pertencentes ao gênero *Streptomyces*. A técnica de pareamento demonstrou que 65,0% dos isolados pareados com *F. verticillioides* apresentaram atividade antagonista. Os maiores índices de inibição foram apresentados pelos isolados ACT 8, ACT 10 e ACT 17. A identificação de actinobactérias com atividade antagonica contra *F. verticillioides* viabiliza o uso destes microrganismos como estratégia de biocontrole da fusariose no Brasil.

**Palavras-chave:** Actinomicetos. Controle biológico. Antagonismo.

## ABSTRACT

The maize crop is very susceptible to several diseases, due to its exposure to different climatic conditions, a factor that favors contamination by fungi, responsible for great losses in productivity. One of the main phytopathogens of maize is *Fusarium verticillioides*, which

---

<sup>1</sup> Formanda do curso de Biotecnologia da Faculdade Ciências da Vida (FCV) - Sete Lagoas – MG - alessandra.silverio@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Mestre em Ciências e doutorando em Microbiologia pela Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. Professor/orientador da Faculdade Ciências da Vida. joaocmdo@yahoo.com.br

causes fusariosis and produces mycotoxins. The potential of some microorganisms as agents of disease-causing pathogens in maize is used as a very promising biocontrol mechanism. Actinobacteria have a metabolic diversity that allows them to adapt to different medium and relevant capacity to produce different active substances of agricultural interest. Therefore, the objective of the present study was to isolate and select actinobacteria from the cerrado soil with antagonistic activity for the biocontrol of *F. verticillioides*. The soil sample was processed and homogenized with subsequent plating in a solid culture medium for isolation and morphological characterization of actinobacteria. Then, an antagonism test against *F. verticillioides* was performed using the paired culture method. The results showed high macro and micromorphological variability among the 20 isolates obtained from the cerrado soil sample, demonstrating that the isolated microorganisms belong to the genus *Streptomyces*. The pairing technique demonstrated that 65.0% of the isolates paired with *F. verticillioides* showed antagonistic activity. The highest inhibition rates were shown by the ACT 8, ACT 10 and ACT 17 isolates. The identification of actinobacteria with antagonistic activity against *F. verticillioides* enables the use of these microorganisms as a biocontrol strategy for fusariosis in Brazil.

Keywords: Actinomycetes. Biological control. Antagonism.

## 1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais cultivados entre as principais culturas, destacando-se pela utilização na alimentação humana e animal, e mais recente utilizado também como matéria-prima para produção de biocombustíveis. Produzido em praticamente quase todas as regiões do Brasil, o milho é uma cultura muito susceptível a várias doenças, devido sua exposição a diferentes condições climáticas, fator que favorece a contaminação por fungos, responsáveis por grandes perdas na produtividade além de danos econômicos e ecológicos (MAGALHÃES *et al.*, 2016).

Um dos principais fitopatógenos do milho é o fungo *Fusarium verticillioides* que tem como habitat natural o solo das diversas regiões geográficas do mundo, onde as condições como temperatura amena e climas tropicais, favorecem sua disseminação (ANGELOTTI *et al.*, 2017). A problemática fitossanitária desse fungo à cultura do milho, leva a contaminação dos alimentos, a indisponibilidade de nutrientes, riscos à saúde humana e animal, através, principalmente, da produção de micotoxinas (SCAGLIONI & FURLONG, 2020).

O tratamento mais recomendado para o controle desse fitopatógeno na cultura do milho é o químico por meio do uso de agroquímicos. No entanto, este método demanda elevados custos, além de causarem danos à saúde dos seres vivos e ao ambiente pelo uso intensivo e indiscriminado, a eliminação de microrganismos benéficos e, contribui para a resistência dos patógenos. Dessa maneira, a busca de alternativas baseadas no controle biológico assume grande importância econômica e ecológica. As actinobactérias são fontes de metabólitos secundários, entre os quais se destacam inúmeras moléculas bioativas, tais como os antibióticos e antifúngicos com ação comprovada (BEHIE *et al.* 2017).

Neste contexto, o presente trabalho se justifica, uma vez que a bioprospecção de actinobactérias com atividade antagonista frente à *Fusarium verticillioides* pode contribuir para o biocontrole da fusariose na cultura do milho, tornando-se relevante para o tratamento de doenças que prejudicam a produção agrícola deste cereal e contribuindo na redução de custos, na segurança alimentar e na diminuição dos impactos negativos ao meio ambiente.

De acordo com o cenário aqui apresentado, o trabalho apresenta a seguinte questão: Actinobactérias isoladas do solo do cerrado possuem atividade antagônica para potencial uso no biocontrole de *Fusarium verticillioides*? Diante do problema indicado, este trabalho objetivou isolar e selecionar actinobactérias de solo do cerrado com atividade antagônica para o biocontrole de *F. verticillioides*. Para alcançar o objetivo fez-se o isolamento, a caracterização morfológica e avaliação *in vitro* dos isolados de actinobactérias quanto ao potencial antagonista para biocontrole do fitopatógeno da cultura do milho, *F. verticillioides*. Para tal interesse, propôs a utilização de uma metodologia descritiva, com caráter qualitativo e semiquantitativo, e caráter transversal.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 CULTURA DO MILHO**

Pertencente à família Poaceae, o milho (*Zea mays* L.) é uma espécie de planta de cultivo anual, que já foi bem domesticada, e seus grãos são os mais cultivados e consumidos

no mundo com diversas utilizações como na alimentação animal, alimentação humana, compostos químicos e recentemente como matéria prima para produção de bioetanol (WHEALS *et al.*, 1999; BORGES *et al.*, 2014; MILANEZ *et al.*, 2014; ABIMILHO, 2019; GARCÍA-LARA *et al.*, 2019).

Atualmente, a cultura do milho ultrapassa a marca de 1 bilhão de toneladas. Participando ativamente do comércio com produção em nível global, o milho também se tornou um importante produto para o mercado brasileiro, que produziu, inclusive, na safra de 2016/17 97,8 milhões de toneladas do grão, saindo então de uma curva nos últimos 40 anos onde em 1976/77 produzira 20 milhões, e produzindo 80 milhões de toneladas em 2017/18 (CONAB, 2018). O Brasil se encontra no TOP 4 da lista de países que mais comercializam o grão, qual é dividida com Estados Unidos, Argentina e Ucrânia. Somente esse grupo apresentou em 2018 cerca de 86,2% do comércio mundial (USDA, 2018).

No entanto, o cultivo do milho enfrenta diversos fatores que interferem e levam a rendimentos negativos em sua produtividade, como diferentes condições edafoclimáticas, que podem propiciar o desenvolvimento de doenças (BRITO *et al.*, 2008; POZAR *et al.*, 2009; MAGALHÃES *et al.*, 2016). Um dos principais fatores observáveis, segundo Lajús e colaboradores (2020), é que o milho apresenta alta vulnerabilidade quanto á produção, decorrente de uma cultura com baixa população de plantas, associado à monocultura.

Práticas incorretas de irrigação nos campos agrícolas, expansão da área cultivada, plantio de híbridos e variedades suscetíveis em regiões de epidemias, que criam um ambiente propício aos patógenos para se desenvolverem também favorecem a ocorrência de doenças na cultura do milho (PINTO *et al.*, 1997; MANERBA *et al.*, 2013; NETO *et al.*, 2019). Dentre as diversas doenças do milho que causam prejuízos expressivos e ocorrem em todas as regiões produtoras no Brasil, encontra-se a fusariose, causada pelo fungo *Fusarium verticillioides*.

## 2.2 FUSARIOSE

O fungo *Fusarium verticillioides* ((Saccardo) Nirenberg), também conhecido por *Fusarium moniliforme* Sheldon, espécie fitopatogênica e saprófita do solo, compõem o complexo *Gibberella fujikuroi*, que frequentemente estão associados a doenças que acometem o milho em todas as fases de desenvolvimento causando podridão das raízes, caules e espigas (PINTO, 1998; PAMPHILE *et al.*, 2004; SARTORI *et al.*, 2004; GOMES *et al.*, 2013; RAMOS *et al.*, 2014; WALKER *et al.*, 2016).

A fusariose causada por *Fusarium spp*, uma das principais doenças que afetam o milho, ocasiona infecções nos colmos e espigas de milho, facilmente observáveis pela apresentação da coloração rosa-salmão das partes afetadas pela colonização e crescimento do micélio do fungo (LIMA *et al.*, 2000; FILHO, 2012; FINGSTAG *et al.*, 2016;). Geralmente, a fusariose ocorre devido o contato do microrganismo com lesões causadas por insetos ou pássaros em partes da planta ou por processo de infecção de forma direta nas raízes e colmos (PRESTES *et al.*, 2019).

O *F. verticillioides* produz micotoxinas como metabólito secundário que, contamina os grãos e os subprodutos do milho. As fumonisinas são oriundas dessas micotoxinas, quais são relatadas na literatura como causadoras de efeitos tóxicos em humanos e animais, do tipo, síndrome do edema pulmonar em humanos, síndrome da leucoencefalomalácia equina, diarreia em suínos, intoxicação e morte de aves, que se alimentam de grãos contaminados (GOULART & FIALHO, 1999; MACHADO *et al.*, 2001; BLACUTT *et al.*, 2018; REYES-VELÁZQUEZ *et al.*, 2018; FILHO *et al.*, 2018; DADALT *et al.*, 2020).

A disseminação do inóculo desse fungo se dá através de sementes infectadas, restos culturais, pelo ar, respingos de água e ainda pela penetração do esporo nos estigmas da planta, pois os fungos têm uma grande capacidade de resistir a variações de condições, o que facilita sua dispersão (FIGUEIRA *et al.*, 2003; FILHO, 2012; JOÃO AMÉRICO *et al.*, 2018; TUPAKI-SREEPURNA *et al.*, 2018). Condições favoráveis como alta umidade relativa e temperaturas em torno de 27°C propiciam o crescimento micelial, germinação e desenvolvimento de conídios (REIS *et al.*, 2004; PINTO *et al.*, 2006; FREDDO *et al.*, 2016; GOULART, 2018). Uma das dificuldades encontradas para fazer o controle dessa doença, são os mecanismos de resistência do patógeno, que permanece no solo por longos períodos. E o biocontrole tem se tornado um método viável para reduzir o uso de produtos químicos e tóxicos (SANTOS *et al.*, 2017).

### 2.3 BIOCONTROLE

O biocontrole tem como definição clássica o controle de um micro-organismo através de outro micro-organismo (BAKER & COOK, 1974; BETTIOL, 1991; LANDERS & DE OLIVEIRA, 2018). Já Michereff (2001), define controle biológico ou biocontrole, como a

ação de um ou mais organismos atuando na diminuição da concentração de inóculo ou, nos efeitos que causam doenças. Deste modo, os componentes do biocontrole são a planta hospedeira, o patógeno e seus antagonistas, todos interagindo num sistema biológico sob a influência do ambiente (ROCHA *et al.*, 2017).

O método mais difundido entre os produtores agrícolas é o controle químico, realizado no tratamento de sementes e inseticidas que são pulverizados na lavoura (GARAVAZI *et al.*, 2020). No entanto, para uma agricultura sustentável há a necessidade da utilização de métodos menos nocivos ao meio ambiente, nisso o controle biológico tem se destacado e mostrado expressivo crescimento e busca por alternativas naturais que minimizem os efeitos negativos das doenças (DOS SANTOS *et al.*, 2020).

Nos últimos anos, estudos vêm demonstrando o potencial de alguns microrganismos como agentes inibitórios de patógenos causadores de doenças em culturas, podendo ser citados a bactéria *Bacillus subtilis* sobre o patógeno *Fusarium subglutinans* (JUNIOR *et al.*, 2017), espécies de fungos como *Trichoderma spp.* no controle de *Sclerotinia sclerotiorum* (HADDAD *et al.*, 2017) e espécies de actinobactérias na inibição de *Meloidogyne incógnita* que prejudica a cultura do algodão (TAVARES *et al.*, 2019).

Deste modo, algumas espécies de actinobactérias têm se destacado pela elevada capacidade em produzir importantes substâncias capazes de controlar micro-organismos fitopatogênicos (SIQUEIRA, 1988), demonstrando o seu grande potencial antagônico. Na agricultura, as actinobactérias do gênero *Streptomyces*, tem controlado em nível satisfatório inúmeras doenças (MOURA & ROMEIRO, 1999; COOMBS *et al.*, 2004; SAHILAH *et al.*, 2010; VAN DER SAND *et al.*, 2014; SHIOMI *et al.*, 2015; DOS SANTOS *et al.*, 2016; VENTURA *et al.*, 2018).

## 2.4 ACTINOBACTÉRIAS

São caracterizadas por serem bactérias Gram-positivas com elevado teor de guanina/citosina em seu genoma sendo em sua maioria aeróbios (STACH *et al.*, 2003; NITHYA *et al.*, 2012; TORTORA *et al.*, 2012; VAN DER SAND *et al.*, 2014; DA SILVA SOARES, 2019). Em sua morfologia, as actinobactérias apresentam estrutura celular peculiar a dos procariotos, sendo assim diferenciado dos fungos (TORTORA *et al.*, 2012; LI *et al.*,

2016; MEDEIROS *et al.*, 2020). De acordo com Barka *et al.* (2016), as actinobactérias miceliais se assemelham aos fungos, em sua forma de reprodução, que se dá por esporulação.

As actinobactérias são encontradas em vários ambientes naturais, como em poeira, em produtos alimentícios, nas fontes fluviais e marítimas, bem como na atmosfera e ainda nos antropogênicos, que são ambientes oriundos da ação do homem, como resíduos sólidos municipais, esgoto e efluentes das indústrias (MCCARTHY & WILLIAMS, 1992; BENIZRI *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 2003; FILHO *et al.*, 2009; GURUNG *et al.*, 2009; OGUNMWONYI *et al.*, 2010, BIZUYE *et al.*, 2013; VAN DER SAND *et al.*, 2014; DE PAULA BRITO *et al.*, 2016). Em sua maioria, são comumente encontradas no solo, em especial, em climas desérticos. Onde, normalmente a maioria das espécies apresentam grandes dificuldades para sobreviverem e prosperarem, esses microrganismos, no entanto, apresentam grande adaptabilidade (DOS SANTOS *et al.*, 2019).

Um dos fatores que colaboram à adaptabilidade das actinobactérias é a diversidade metabólica que possuem (KENNEDY, 1999; RAMOS *et al.*, 2018), podendo ser autotróficos, heterotróficos, quimiotróficos e fototróficos. Outra característica considerável à adaptação dessas, se dá pelo seu potencial em sintetizar enzimas hidrolíticas extracelulares, quais são de muita relevância na manutenção do ecossistema atuante (DA SILVA ALVES *et al.*, 2016). De acordo com Behie *et al.* (2017), as actinobactérias são responsáveis por 70% da produção de antibióticos e, também por produzirem antimicinas, candidina, dentigerumicina e variantes de nistatina, conjunto de antifúngicos, que são conhecidos como produtos naturais (NP) ou metabólitos secundários.

Dentre as actinobactérias o gênero *Streptomyces* é o maior, e sabe-se, que a maioria das moléculas comercialmente usadas pela indústria farmacêutica são sintetizadas por organismos pertencentes a este grupo (MAHESHWARI *et al.*, 2010; LAW *et al.*, 2017), além da relevância na agricultura por meio de seu potencial de controle biológico contra fitopatógenos, com melhoria na manutenção do ambiente, na reciclagem de nutrientes e resíduos orgânicos (GOMES *et al.*, 2019).

Actinobactérias têm demonstrado elevado potencial para biocontrole de doenças de plantas (SAHILAH *et al.*, 2010; DA SILVA SOUSA *et al.*, 2020). Dentre os estudos realizados, destacam-se o controle da murcha bacteriana causada pela bactéria *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) em plantas de tomate (DA SILVA CARVALHO *et al.*, 2020),

podridão em frutos de videira pelo fungo *Botrytis cinerea* (OLIVEIRA, 2004), podridão de raiz e coroa em trigo (COOMBS *et al.*, 2004; VAN DER SAND, 2014), mancha foliar em milho causada pelo fungo *Exserohilum turcicum* (SHIOMI *et al.*, 2015), na supressão do patógeno *Phytophthora capsici*, que é causador de podridão e tombamento de algumas hortaliças (MATTEI *et al.*, 2017) e no combate ao mofo branco que é causado pelo fungo *Sclerotinia sclerotiorum* (ROCHA *et al.*, 2017).

### 3 METODOLOGIA

O presente trabalho se trata de uma pesquisa experimental que buscou isolar e caracterizar actinobactérias de amostras do solo do cerrado e avaliar o seu potencial antagonico frente à *Fusarium verticillioides*. Adotou os métodos de pesquisa descritivos, qualitativos e semiquantitativos, com caráter transversal. Esses experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Micologia da Universidade Federal de Minas Gerais, no município de Belo Horizonte, MG.

#### 3.1 ISOLAMENTO

Um total de 10 g de amostras de solo do cerrado, da região de Sete Lagoas/Minas Gerais, foram peneirados e, em seguida, homogeneizados por 30 minutos em 45 mL de solução salina 0,85%. Após homogeneização, uma alíquota de 1 mL foi pipetada e procedeu-se às diluições seriadas ( $10^{-3}$  a  $10^{-5}$ ) para isolar as actinobactérias. O volume de 100  $\mu$ L de cada diluição foi plaqueado em meio de cultura Ágar Glicerol-Asparagina – AGA [1 g/L de L-asparagina, 10 g/L de glicerol, 1 g/L de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 15 g/L de ágar e 1 mL/L de solução de micronutrientes (0,1 g de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 g de  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , 0,1 g de  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , qsp 100 mL de água deionizada)] suplementado com 0,03 g/L de antibiótico ciclohexamida, seguido de incubação à temperatura de 28°C por um período de 14 dias (SHIRLING *et al.*, 1966). Todo o procedimento de metodologia para o plaqueamento, foi realizado em triplicata.

## 3.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS ISOLADOS DE ACTINOBACTÉRIA

### 3.2.1 Macromorfologia

Para análise macromorfológica, 20 isolados de actinobactéria foram submetidos ao exame macroscópico de acordo com Shirling & Gottlieb (1966). Os isolados foram cultivados em meio AGA a 28°C por 14 dias, em placas de Petri. A coloração dos micélios vegetativo (reverso da placa) e aéreo, além da presença de pigmentos solúveis (anverso da placa) foram avaliados em todos os isolados pré-selecionados.

### 3.2.2 Micromorfologia

Foi realizada a técnica de microcultivo (HOLT *et al.*, 1989) em cada um dos 20 isolados de actinobactérias. O microcultivo foi montado em placa de Petri de vidro contendo no seu interior uma lâmina de microscópio e ao seu lado um chumaço de algodão. Cada conjunto foi embalado e esterilizado em autoclave por 30 min à 121°C. Um cubo de aproximadamente 1 cm<sup>3</sup> de meio de cultura AGA foi cortado e colocado sobre a lâmina contida no interior da placa. O isolado foi inoculado com o auxílio de alça de platina em todos os lados do cubo, posteriormente coberto por uma lamínula esterilizada. O algodão no interior foi umedecido com água ultrapura esterilizada e a placa incubada em estufa por 14 dias a 28 °C. Após o período de incubação, a lamínula foi retirada e colocada sobre outra lâmina microscópica estéril contendo uma gota de lactofenol de Amann (ácido láctico, fenol cristalizado, glicerol e água na proporção de 1:1:1:1), sendo as bordas vedadas com esmalte incolor. Após o preparo, as lâminas foram avaliadas quanto à presença de cadeia de esporos e morfologia no microscópio óptico Leica DFC 490 (Leica, Alemanha) em aumento de 1000X.

## 3.3 TESTE DE ANTAGONISMO *in vitro* DE ISOLADOS DE ACTINOBACTÉRIA COM POTENCIAL PARA BIOCONTROLE DE *Fusarium verticillioides*

Para os ensaios de antagonismo *in vitro* foi empregado o método de cultura pareada conforme descrito por Dennis e Webster (1971). Em placas de Petri contendo meio BDA, cada actinobactéria foi pareada com os isolados de *F. verticillioides*. Em câmara de fluxo

laminar, discos de 0,5 cm de diâmetro contendo meio de micélio de *F. verticillioides* foi retirado e colocado a 1 cm da borda da placa de Petri. Na outra extremidade foi colocado os isolados de actinobactérias, por meio da técnica de semeadura de estrias múltiplas, que consiste em espalhar o material com o auxílio de uma alça bacteriológica de platina, formando assim o pareamento das colônias. Como testemunha, foi usado placas contendo na extremidade apenas um disco com meio e micélio de *F. verticillioides*. Logo em seguida as placas foram incubadas a 28 °C. O potencial de antagonismo dos isolados de actinobactérias foi avaliado através da medição do crescimento micelial do fungo *F. verticillioides*, até a testemunha cobrir toda a superfície do meio.

O antagonismo dos isolados foi avaliado por meio da medição do diâmetro ortogonal das colônias com auxílio de um paquímetro em dois eixos ortogonais (média das duas medidas diametricamente opostas), no 5º dia após inoculação. Para o cálculo da zona de inibição do crescimento micelial foi aplicada a fórmula proposta por Menten *et al.* (1976), na qual:

$$\% \text{ inibição} = \frac{(cr_{\text{test}} - cr_{\text{trat}})}{cr_{\text{test}}} \times 100$$

onde:  $cr_{\text{test}}$  = crescimento radial da testemunha e  $cr_{\text{trat}}$  = crescimento radial do tratamento.

### 3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os ensaios de controle biológico das actinobactérias foram dispostos conforme o delineamento inteiramente casualizado (DIC) com três repetições por amostra. Os resultados obtidos foram analisados individualmente, quando ocorreram diferenças significativas pelo teste F ( $p \leq 0,05$ ), os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade, utilizando o software SISVAR® 5.3 (FERREIRA *et al.*, 2010).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 4.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DE ACTINOBACTÉRIAS

Após o isolamento dos microrganismos procedeu-se com análise macroscópica onde foram observadas a produção de micélio aéreo e vegetativo além do padrão de coloração das colônias, sendo desta forma, selecionados 20 morfotipos caracterizados como actinobactéria. (Tabela 1). Dornelas *et al.* (2017), também utilizaram estas características macromorfológicas como método de seleção de possíveis actinobactérias isoladas de solo do cerrado e observaram a alta diversidade que estes microrganismos apresentam com relação aos parâmetros avaliados, corroborando os dados obtidos no presente estudo. Euanorasetr *et al.* (2010), esclarece que o micélio vegetativo de actinobactéria pode apresentar variado perfil de coloração.

**Tabela 1.** Características morfológicas dos isolados de actinobactérias obtidas de solo do cerrado.

Isolado	Características macromorfológicas		Características micromorfológicas
	Micélio aéreo	Micélio vegetativo	Cadeia de esporos
ACT1	Marrom claro	Marrom claro	Espiral
ACT2	Creme	Creme	Reta
ACT3	Branco	Marrom claro	Espiral
ACT4	Creme	Creme	Reta
ACT5	Marrom escuro	Marrom escuro	Flexível
ACT6	Branco	Bege	Flexível
ACT7	Marrom claro	Marrom	Flexível
ACT8	Creme	Amarelo	<i>Retinaculum-apertum</i>
ACT9	Amarelo	Bege	<i>Retinaculum-apertum</i>
ACT10	Amarelo	Creme	Espiral
ACT11	Cinza	Marrom escuro	Reta
ACT12	Branco	Bege	Flexível
ACT13	Marrom claro	Marrom escuro	Flexível
ACT14	Cinza	Bege	<i>Retinaculum-apertum</i>
ACT15	Branco	Marrom claro	Flexível
ACT16	Marrom claro	Marrom	Flexível
ACT17	Cinza	Bege	Flexível
ACT19	Amarelo	Amarelo	Reta
ACT20	Marrom	Marrom escuro	Flexível

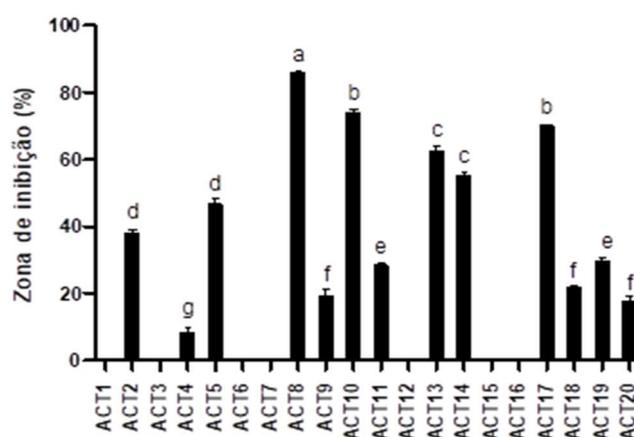
A caracterização micromorfológica das colônias selecionadas revelou variada diferenciação na estrutura morfológica das cadeias de esporos dos diferentes isolados, sendo 20,0% reta, 15,0% *retinaculum-apertum*, 15,0% espiral e 50,0% flexível. Estes resultados são semelhantes aos estudos de Dornelas *et al.* (2017), e sugerem que os microrganismos isolados

e caracterizados micromorfológicamente sejam pertencentes ao gênero *Streptomyces*. Williams *et al.* (1983), reportam que a caracterização microscópica do gênero *Streptomyces* pode ser realizada através da observação da cadeia de esporos que podem ser retos, flexuosos ou em forma de espirais.

#### 4.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTAGONISTA DOS ISOLADOS DE ACTINOBACTÉRIAS

A zona de inibição do crescimento micelial de *F. verticillioides* confrontado com os 20 microrganismos isolados apresentou variações significativas em relação aos isolados testados ( $p \leq 0,05$ ). A atividade antagonista das actinobactérias realizadas por meio do pareamento de culturas revelou diretamente a ação antagonista *in vitro* de 13 microrganismos, fato não observado em 07 dos morfotipos testados, conforme apresentado no Gráfico 1. Segundo Mota *et al.* (2017), o teste de confronto direto *in vitro* é um método de triagem adequado para avaliar de forma rápida um grande número de microrganismos com atividade antagonista para uso em biocontrole de fitopatógenos. Figueroa-López *et al.* (2016), esclarecem que o uso do método de cultura pareada, otimiza a seleção de microrganismos que produzem compostos bioativos que se difundem no meio de cultura sólido e microrganismos que atuam inibindo o fitopatógeno por meio de diferentes técnicas de biocontrole.

Os 13 isolados que reduziram significativamente o crescimento do *F. verticillioides* foram separados em oito grupos (A - g) por meio do teste estatístico de Scott-knott (Gráfico 1). No entanto, foram considerados como promissores agentes para o biocontrole de *F. verticillioides*, os microrganismos que apresentaram inibição acima de 70%. Deste modo, os candidatos com potencial antagonista estão presentes nos grupos a (ACT 8) e b (ACT 10 e ACT 17), resultando na seleção final de 03 microrganismos agentes de biocontrole. Deste modo, 10 estirpes apresentaram baixa atividade antagonista contra o fitopatógeno avaliado. De acordo com Diniz (2018), os microrganismos incapazes de produzir substâncias bioativas em quantidade suficiente para inibir o crescimento de *F. verticillioides* podem não exibir uma resposta antagonista satisfatória.



**Gráfico 1.** Zona de inibição da expansão micelial de *Fusarium verticillioides* na presença das actinobactérias obtidas de solo do cerrado. Médias de 3 repetições, seguidas pela mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo teste de scott-Knott a 5% de probabilidade.

Em conformidade com as características morfológicas, os microrganismos que apresentaram alto potencial para uso no controle biológico de *F. verticillioides* pertencem ao gênero *Streptomyces*. De acordo com Yadav *et al.* (2018), os metabólitos secundários produzidos por actinobactérias, despertam grande interesse agrícola devido ao elevado potencial para o biocontrole de fitopatógenos por serem mais ecológicos e agregar qualidade e fertilidade para o solo. Quitanasas e glucanases, de isolados de actinobactérias, degradam por meio de hidrólise a parede celular fúngica, impedindo a germinação de esporos e/ou a expansão micelial dos fungos (DA SILVA SOUSA *et al.*, 2020). Segundo Ganapathy *et al.* (2018), sideróforos produzidos por espécies de *Streptomyces* indisponibilizam íons ferro, presentes no solo, demonstrando seu papel protetor contra fungos patogênicos que necessitam deste metal como fonte de nutriente.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Entre as actinobactérias isoladas de solo do cerrado existe alta diversidade em relação às características morfológicas e atividade antagonista. Os isolados de actinobactérias ACT8, ACT 10 e ACT 17 são capazes de inibir consideravelmente o crescimento micelial do fungo

*F. verticillioides in vitro* e apresentam potencial para utilização no controle biológico da fusariose no milho.

O pouco tempo e a falta de infraestrutura para a execução dos ensaios laboratoriais foram uma limitação no presente estudo. Deste modo, sugere-se que, na realização de trabalhos futuros, sejam realizados testes de controle biológico *in vivo*, em casa de vegetação e campo, para avaliar o comportamento e mecanismos de biocontrole das actinobactérias. O presente estudo contribui com a busca por linhagens de microrganismos, em fontes naturais ainda pouco exploradas, potencialmente capazes de inibir o crescimento de *F. verticillioides in vitro* causador da fusariose em diversas culturas de interesse econômico e agrícola.

## REFERÊNCIAS

ABIMILHO - Associação brasileira das indústrias de milho. 2019. Disponível em: <<http://www.abimilho.com.br/milho/cereal>>. Acesso em: 29 out. 2020.

ANGELOTTI, F.; GHINI, R.; BETTIOL, W. **Como o aumento da temperatura interfere nas doenças de plantas?** Embrapa Semiárido-Capítulo em livro científico (ALICE), 2017.

BAKER, K. F; COOK R. J. **Biological control of plant pathogenes**. San Francisco: W. H. Freeman, p. 433, 1974.

BARKA, E. A. *et al.* **Taxonomy, physiology, and natural products of Actinobacteria**. Microbiology and Molecular Biology Reviews. v. n. 80, p. 1-43, 2016.

BEHIE, S. W. *et al.* **Molecules to ecosystems: Actinomycete natural products in situ**. Frontiers in microbiology, v. 7, p. 2149, 2017.

BENIZRI, E.; BAUDOIN, E.; GUCKERT, A. **Root colonization by inoculated plant growthpromoting rhizobacteria**. Biocontrol Science and Technology. v. 11, n. 5, p. 557-574, 2001.

BETTIOL, W. **Seleção de microrganismos antagônicos a fitopatógenos**. In: BETTIOL, W. (Ed.) Controle Biológico de Doenças de Plantas. Jaguariuna: EMBRAPA, 388p, 1991.

BIZUYE, A.; MOGES, F.; ANDUALEM, B. **Isolation and screening of antibiotic producing actinomycetes from soils in Gondar town, North West Ethiopia**. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. v. 3, n. 5, p. 375-381, 2013.

BLACUTT, A. A. *et al.* **Fusarium verticillioides: Advancements in understanding the toxicity, virulence, and niche adaptations of a model mycotoxigenic pathogen of maize**. Phytopathology, v. 108, n. 3, p. 312-326, 2018.

- BORGES, T. K. S. *et al.* **Influência de práticas conservacionistas na umidade do solo e no cultivo do milho (*Zea mays* L.) em semiárido nordestino.** Revista Brasileira de Ciência do Solo. v. 38, p. 1862-1873, 2014.
- BRITO, A. H. *et al.* **Avaliação da severidade da cercosporiose e rendimento de grãos em híbridos comerciais de milho.** Revista Brasileira de Milho e Sorgo. v. 7, n.1, p. 19-31, 2008.
- CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento.** Série histórica das safras. 2018. Disponível em: <<https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/serie-historica-das-safras>> Acesso em: 12 out. 2020.
- COOMBS, J. T.; MICHELSEN, P. P.; FRANCO, C. M. M. **Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of *Gaeumannomyces graminis* var *tritici* in wheat.** Biological Control. v. 39, p. 359-366, 2004.
- DA SILVA ALVES, D. A. *et al.* **Produção de celulase e amilase por actinobactérias do semiárido brasileiro,** 2016.
- DA SILVA CARVALHO, L. T. *et al.* **Enxertia de tomateiro em genótipos de solanáceas para o controle da murcha bacteriana (*Ralstonia solanacearum* Smith 1896).** Pesquisa Agropecuária Tropical (Agricultural Research in the Tropics), v. 50, p, 2020.
- DA SILVA SOARES, T. **Caracterização e otimização na produção de compostos antimicrobianos de actinobactérias isoladas de manguezal na baía de Paranaguá, Paraná, Brasil.** In: X SEMANA ACADÊMICA DE BIOLOGIA E VII SEMINÁRIO DE PESQUISAS AMBIENTAIS. 2019.
- DA SILVA SOUSA, C. *et al.* **Actinobactérias no controle do mal das folhas em mudas de seringueira.** Revista Macambira, v. 4, n. 1, p. e041007-e041007, 2020.
- DADALT, A. L. L.; PRIMIERI, C. **Níveis de micotoxinas na silagem de milho na região oeste do Paraná.** Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária FAG, v. 3, n. 1, p. 30-38, 2020.
- DE PAULA BRITO, P. H.; DO NASCIMENTO, R. P. **Avaliação do potencial enzimático de actinobactérias isoladas de ambientes costeiros,** 2016.
- DENNIS, C.; WEBSTER. J. **Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma* III.** Hyphal interactions. Transactions of the British Mycological Society, Cambridge, v. 57, n. 3, p. 363-369, 1971.
- DINIZ, G. F. D. **Seleção e caracterização de agentes para o biocontrole de *Fusarium verticillioides* na cultura do milho.** 2018. 58p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São João Del-Rei, Sete Lagoas/MG.
- DORNELAS, J. C. M. *et al.* **Characterization and phylogenetic affiliation of Actinobacteria from tropical soils with potential uses for agro-industrial processes.** Genetics and Molecular Research. v. 16, n. 3, p.1-16, 2017.
- DOS SANTOS, F. D. *et al.* **Morfologia de cepas de actinobactérias em áreas suscetíveis à desertificação,** 2019.

DOS SANTOS, J. F. *et al.* **Actinobactérias e adubos orgânicos no manejo do nematóide *Scutellonema bradys* em plantas de inhame.** Revista Caatinga, v. 29, n. 3, p. 548-558, 2016.

DOS SANTOS, J. R. *et al.* **Eficiência de métodos de controles na supressão da *Spodoptera frugiperda* (smith) na cultura do milho.** Revista Inova Ciência & Tecnologia/Innovative Science & Technology Journal, v. 4, n. 1, p. 7-13, 2018.

DOS SANTOS, J. R. *et al.* **Influência dos métodos de controle da lagarta-do-cartucho sobre o desenvolvimento e produção de milho.** Conexões-Ciência e Tecnologia, v. 14, n. 4, p. 31-38, 2020.

EUANORASETR, J. *et al.* **Identification and characterization of soil-isolated *Streptomyces* SJE177 producing actinomycin.** Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health, v. 41, n. 5, p. 1177-1187, 2010.

FERREIRA, D.F. S - **Sistema de análise de variância.** Versão 5.3. DEX. Lavras - MG: UFLA, 2010

FIGUEIRA, E. L. Z. *et al.* **Milho: riscos associados a contaminação por *Fusarium verticillioides* e fumonisinas.** Semina: Ciências Agrárias. v. 24, n. 2, p. 359-378, 2003.

FIGUEROA-LÓPEZ, A. M. *et al.* **Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*.** Springer Plus, v. 5: 330, 2016.

FILHO, J. A. W. **Fusariose ou podridão-de-fusarium na cultura do milho.** Revista Plantio Direto. v. 49, 2012.

FILHO, J. A. W.; NESI, C. N. **Tombamento causado por *Fusarium verticillioides* na cultura do milho.** Agropecuária Catarinense, Florianópolis, v.31, n.2, p.33-36, 2018.

FILHO, R. C. *et al.* **Potencialidade de um actinomiceto de rizosfera de tomateiro como agente de biocontrole de doenças.** Horticultura Brasileira. v. 27, n.3, p. 340-344, 2009.

FINGSTAG, M. D. *et al.* **Aplicação de fungicida no espigamento do milho visando controle da podridão de espiga de giberela.** 2016.

FREDDO, A. R. *et al.* **Potencial do óleo essencial de erva-lúisa (*Aloysia citriodora* Palau) no controle de *Fusarium sp. in vitro*.** Revista Brasileira de Plantas Mediciniais, v. 18, n. 2, p. 558-562, 2016.

GANAPATHY, A.; NATESAN, S. **Metabolic potential and biotechnological importance of plant associated endophytic actinobacteria.** In: New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering. Elsevier, p. 207- 224. 2018.

GARAVAZI, F.; PATRONI, B. H.; DE CARVALHO BALIEIRO, C. **Comparativo do controle biológico e químico de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho.** Revista Ensaios Pioneiros, v. 4, n. 1, p. 89-98, 2020.

GARCÍA-LARA, S.; SERNA-SALDIVAR, S. O. **Chapter 1 - Corn History and Culture.** In: SERNA-SALDIVAR, S. O. (Ed.). Corn (Third Edition). Oxford: AACC International Press, p.1-18. 2019.

GOMES, M. R. F.; MARRIEL, I. E. **Bioprospecção de actinobactérias produtoras de enzimas de interesse da biotecnologia agroindustrial.** In: Embrapa Milho e Sorgo-Artigo

em anais de congresso (ALICE). In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA PIBIC/CNPq, 14., 2019, Sete Lagoas. Embrapa Milho e Sorgo, 2019.

GOMES, U. D. *et al.* **Avaliação do desenvolvimento de plantas de milho (*zea mays* L.) após colonização pelo fungo endofítico *Fusarium verticillioides*.** Iniciação Científica Cesumar. v.15, n. 2, p. 131-137, 2013.

GOULART, A. C. P. **Fungos em sementes de soja: detecção, importância e controle/ 2. ed.** Rev. e ampl. - Brasília, DF: Embrapa, 2018.

GOULART, A. C. P.; FIALHO, W. F. B. **Incidência e controle de *Fusarium moniliforme* Sheldon em sementes de milho.** Revista brasileira de Sementes. v. 21, n. 1, p. 216-222, 1999.

GURUNG, T. D.; SHERPA, C.; AGRAWAL, V. P.; LEKHAK, B. **Isolation and characterization of antibacterial actinomycetes from soil samples of Kalapatthar, Mount Everest Region.** Nepal Journal Science and Technology. v. 10, p. 173-182, 2009.

HADDAD, P. E. *et al.* **Selection of *Trichoderma spp.* strains for the control of *Sclerotinia sclerotiorum* in soybean.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v. 52, n. 12, p. 1140-1148, 2017.

HOLT, J.G.; WILLIAMS, S.T.; SHARPE, M.E. **Bergey's manual of systematic bacteriology.** Baltimore: Williams & Wilkins. v.4, p.2300- 2648, 1989.

JOÃO AMÉRICO, W. F. *et al.* **Pragas e doenças do milho: diagnose, danos e estratégias de manejo.** Boletim Técnico, [S. l.], p. 84, 2018. Disponível em: <<https://publicacoes.epagri.sc.gov.br/BT/article/view/430>>. Acesso em: 15 out. 2020.

JUNIOR, G. M. B. *et al.* **Controle biológico de fitopatógenos por *Bacillus subtilis* in vitro.** Biota Amazônia (Biote Amazonie, Biota Amazonia, Amazonian Biota), v. 7, n. 3, p. 45-51, 2017.

KENNEDY, A. C. **Bacterial diversity in agroecosystems.** Agriculture, Ecosystems and Environment. v. 74, n. 1-3, p. 65-76, 1999.

LAJÚS, C. R. *et al.* **Aspectos agronômicos em híbridos de milho submetidos ao tratamento de sementes com nanopartículas de cobre.** 2020.

LANDERS, J. N.; DE OLIVEIRA, H. N. **Controle biológico: o próximo pulo do gato.** Embrapa Agropecuária Oeste-Artigo em periódico indexado (ALICE), 2018.

LAW, J. Woan-Fei *et al.* **The potential of *Streptomyces* as biocontrol agents against the rice blast fungus, *Magnaporthe oryzae* (*Pyricularia oryzae*).** Frontiers in microbiology, v. 8, p. 3, 2017.

LI, Q.; CHEN, X.; JIANG, Y.; CHENGLIN, J. **Morphological Identification of Actinobacteria.** Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications, [s.l.], p.59-86, 2016.

LIMA, M. I. P. M.; FERNANDES, J. M. C. **Giberela – um problema de todos.** Grupo Cultivar, 2000. Disponível em: <<https://www.grupocultivar.com.br/artigos/giberela-um-problema-de-todos>>. Acesso em: 23 out. 2020.

MACHADO, J. C. *et al.* **Uso da restrição hídrica na inoculação de fungos em sementes de milho.** Revista Brasileira de Sementes. v. 23, n. 2, p. 88- 94, 2001.

- MAGALHÃES, B. G *et al.* **Avaliação, empregando simulação, da diferença na produtividade (yield gap) do milho em Minas Gerais.** In: Embrapa Milho e Sorgo-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO, 31. 2016, Bento Gonçalves. Milho e sorgo: inovações, mercados e segurança alimentar: anais. Sete Lagoas: Associação Brasileira de Milho e Sorgo, 2016., 2016.
- MAHESHWARI, D. K.; DUBEY, R. C.; SARAVANAMURTHU, R. **Industrial Exploitation of Microorganisms.** India: I.K. International Publishing House, 2010.
- MANERBA, F. C. *et al.* **Antibióticos no controle da mancha-branca do milho.** *Comunicata Scientiae.* V. 4, n. 4, p. 361-367, 2013.
- MATTEI, D. *et al.* **Produtos fitossanitários biológicos disponíveis para agricultura e perspectivas de novos produtos.** *CIÊNCIAS AGRÁRIAS,* p. 124, 2017.
- MCCARTHY, A. J. & WILLIAMS, S. T. **Actinomycetes as agents of biodegradation in the environment – a review.** *Gene.* v. 115, p. 189-192, 1992.
- MEDEIROS, J. C. D.; MARTINS, W. S.; DE MIRANDA, F. F. R. **Antagonismo de *Trichoderma spp.* no biocontrole de *Fusarium moniliforme* na cultura do milho.** *Revista Sítio Novo,* v. 4, n. 4, p. 169-178, 2020.
- MENTEN, J. O. M. *et al.* **Efeito de alguns fungicidas no crescimento micelial de *Macrophomina phaseolina* (Tass.) Goid. “*in vitro*”.** *Fitopatologia Brasileira.* v. 1, n. 2, p. 57-66, 1976.
- MICHEREFF, S. J. **Fundamentos de fitopatologia.** In: MICHEREFF, S. J. *Controle biológico de doenças de plantas.* Recife: UFRPE, p. 124-129, 2001.
- MILANEZ, A. Y. *et al.* **Produção de etanol pela integração do milho-safrinha às usinas de cana-de-açúcar: avaliação ambiental, econômica e sugestões de política.** *Revista do Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social.* v. 41, p. 147-208, 2014.
- MOTA, M. S. *et al.* **Bacterial selection for biological control of plant disease: criterion determination and validation.** *Brazilian Journal of Microbiology,* v. 48, p. 62-70, 2017.
- MOURA, A. B. & ROMEIRO, R. S. **Avaliação *in vitro* de actinomicetos como antagonistas a *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896).** *Ciência e Agrotecnologia.* v. 23, n. 2, p. 281-288, 1999.
- NETO, J. R. C.; BOSCAINI, R. **Grãos ardidos em milho: uma revisão.** *Revista Científica Rural,* v. 21, n. 2, p. 105-125, 2019.
- NITHYA, B.; PONMURUGAN, P.; FREDIMOSSES, M. **16S rRNA phylogenetic analysis of actinomycetes isolated from Eastern Ghats and marine mangrove associated with antibacterial and anticancerous activities.** *Journal of the Nigerian Association of Mathematical Physics.* v. 11, n. 60, p. 12379-12388, 2012.
- OGUNMWONYI, I. H. *et al.* **Studies on the culturable marine actinomycetes isolated from the Nahoon beach in the Eastern Cape Province of South Africa.** *African Journal of Microbiology Research.* v. 4, n. 21, p. 2223- 2230, 2010.

- OLIVEIRA, S. R. **Atividade antagônica de actinomicetos contra *Botrytis cinerea*, patógeno da videira (*Vitis* sp)**. Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Departamento de Antibióticos. Recife – PE. 2004.
- PAMPHILE, J. A.; ROCHA C. L. M. S. C.; AZEVEDO J. L. **Co-transformation of a tropical maize endophytic isolate of *Fusarium verticillioides* (synonym *F. moniliforme*) with *gusa* and *nia* genes**. Genetics and Molecular Biology. v. 27, n. 2, p. 253-258, 2004.
- PINTO, N. F. J. A. **Patologia de sementes de milho**. Sete Lagoas: Embrapa-CNPMS. Circular Técnica, 29. 44 p., 1998.
- PINTO, N. F. J. A.; FERNANDES, F. T.; OLIVEIRA, E. **Milho (*Zea mays* L.): Controle de doenças**. In: VALE, F. X. R.; ZAMBOLIM, L. (Ed.). Controle de doenças de plantas: Grandes Culturas. Viçosa: UFV, cap. 17, p. 821 – 864, 1997.
- PINTO, N. F. J. A.; SANTOS, M. A.; WRUCK, D. S. M. **Cultivo do milho no sistema plantio direto: Principais doenças da cultura do milho**. Informe Agropecuário. v.27, n.233, p.82-94, 2006.
- POZAR, G. *et al.* **Mapping and validation of quantitative trait loci for resistance to *Cercospora* infection in tropical maize (*Zea mays* L.)**. Theoretical and Applied Genetics. v.118, p. 553-564, 2009.
- PRESTES, I. D. *et al.* **Principais fungos e micotoxinas em grãos de milho e suas consequências**. Scientia Agropecuaria, v. 10, n. 4, p. 559-570, 2019.
- RAMOS, D. P. *et al.* **Infecção por *Fusarium graminearum* e *Fusarium verticillioides* em sementes de milho**. Pesquisa Agropecuária Tropical. v. 44, n. 1, p. 24-31, 2014.
- RAMOS, K. A. *et al.* **Efeito de fatores abióticos sobre a atividade enzimática de actinobactérias de região do semiárido brasileiro**, 2018.
- REIS, E.M.; CASA, R.T.; BRESOLIN, A.C.R. **Manual de diagnose e controle de doenças do milho**. Lages: Graphel, 44p., 2004.
- REYES-VELÁZQUEZ, W. P. *et al.* **Niveles de fumonisinas en rastrojo de maíz para consumo equino en el estado de Jalisco**. Revista mexicana de ciencias pecuarias, v. 9, n. 4, p. 845-854, 2018.
- ROCHA, L R. *et al.* **Prospecção *in vivo* de rizobactérias para o biocontrole do mofo branco em soja**. 2017.
- ROCHA, L. R. *et al.* **Microbiolização de sementes de *Crotalaria* sp com bactérias antagonistas visando a promoção do crescimento de plantas e o biocontrole**. Cadernos de Agroecologia, v. 11, n. 2, 2017.
- SAHILAH, A. M. *et al.* **Identification and characterization of actinomycetes for biological control of bacterial wilt of *Ralstonia solanacearum* isolated from tomato**. Journal of Tropical Agriculture and Food Science. v. 38, n. 1, p. 103-114, 2010.
- SANTOS, L. O. *et al.* **Atividade de rizobactérias antagônicas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *passiflorae* em solos cultivados com plantas monocotiledôneas<sup>1</sup>**. Pesquisa Agropecuária Tropical, v. 47, n. 4, pág. 472-479, 2017.

- SARTORI, A. F.; REIS, E. M.; CASA, R. T. **Quantificação da transmissão de *Fusarium moniliforme* de sementes para plântulas de milho.** Fitopatologia Brasileira. v. 29, n. 4, p. 456-458, 2004.
- SCAGLIONI, P. T.; FURLONG, E. B. **Mitigação da contaminação fúngica e produção de micotoxinas em cultivos de trigo e milho pela aplicação de extratos de microalgas.** REALIDADES E PERSPECTIVAS, p. 6. 2020.
- SHIOMI, H. F.; DE MELO, I. S.; MINHONI, M. T. A. **Avaliação de bactérias endofíticas para o controle biológico da mancha foliar de *Exserohilum turcicum* em milho.** Arquivos do Instituto Biológico, v. 82, 2015.
- SHIRLING, E.B. T. *et al.* **Methods for characterization of *Streptomyces* species.** International journal of systematic bacteriology, v. 16, n. 3, p. 313-340, 1966.
- SILVA, H. S. A., ROMEIRO R. S.; MOUNTEER A. **Development of a root colonization bioassay for rapid screening of rhizobacteria for potential biocontrol agents.** Journal of Phytopathology. v. 151, n. 1, p. 42-46, 2003.
- SIQUEIRA, J. O. **Biotecnologia do solo: fundamentos e perspectivas.** Brasília. Ministério da Educação, p. 118, 1988.
- STACH, J. E. M. *et al.* **Statistical Approaches for Estimating Actinobacterial Diversity in Marine sediments.** Applied and Environmental Microbiology. v. 69, p. 6189-6200, 2003.
- TAVARES, D. G. *et al.* **Controle biológico de *Meloidogyne incognita* por isolados de actinomicetos.** In: Colloquium Agrariae. p. 29-36. 2019.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia.** 10.ed. Porto Alegre: Artemed, p. 934, 2012.
- TUPAKI-SREEPURNA, A. *et al.* ***Fusarium*: the versatile pathogen.** Indian journal of medical microbiology, v. 36, n. 1, p. 8, 2018.
- USDA. **United States Department of Agriculture. Grain: world markets and trade.** 2018. Disponível em: <<https://www.fas.usda.gov/data/grain-world-markets-and-trade>>. Acesso em: 12 out. 2020.
- VAN DER SAND, S. T. *et al.* **Enzyme characterization of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants.** Journal of Advanced Scientific Research. v. 5, p. 16-23, 2014.
- VENTURA, J. P. *et al.* **Actinobactérias como agentes de controle biológico de fitopatógenos de trigo.** In: Embrapa Meio Ambiente-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 12., 2018, Campinas. Anais... Campinas: Instituto Agrônômico, 2018. Nº 18406, 2018.
- WALKER, C. *et al.* **Caracterização morfológica, molecular e patogenicidade de *Fusarium acuminatum* e *Fusarium verticillioides* a *Cordia americana*.** Ciência Florestal, v. 26, n. 2, pág. 463-473, 2016.
- WHEALS, A. E. *et al.* **Fuel ethanol after 25 years.** Trends in Biotechnology. v. 17, n. 12, p. 482-487, 1999.
- WILLIAMS, S. T. *et al.* **A probability matrix for identification of *Streptomyces*.** Journal of General Microbiology. v. 129, p. 1815-1830, 1983.

YADAV, A. N. *et al.* **Actinobacteria from rhizosphere:** molecular diversity, distributions, and potential biotechnological applications. In: New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering. Elsevier, p. 13-41. 2018.