



## **Atividade antagonista de bactérias endofíticas de plantas da amazônia contra o fungo simbiote *L. gongylophorus*, e dos fungos associados presentes nos ninhos de *Atta sexdens***

Adriana Dantas Gonzaga de Freitas<sup>1</sup>; Antônia Queiroz Lima de Souza<sup>2</sup>; Cristina Sayuri Maki<sup>3</sup>; José Odair Pereira<sup>4</sup>; Neliton Marques da Silva<sup>5</sup>

*Submetido 18/01/2016 – Aceito 02/04/2016 – Publicado on-line 25/04/2015*

### **RESUMO**

Interações entre microrganismo compartilhando um mesmo nicho ecológico revestem-se de características fundamentalmente competitivas. Este trabalho teve como objetivo verificar a atividade antagonista de 160 bactérias endofíticas de plantas da Amazônia contra microrganismos presentes no ninho das formigas cortadeiras *Atta sexdens*. Os ensaios foram feitos *in vitro* pelo método de culturas pareadas, contra os microrganismos simbiotes e outros, que foram isolados de ninhos das formigas. O foco dos estudos eram os fungos *L. gongylophorus*, *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp. e Leveduras. Todos os ensaios de antagonismos foram feitos em meio BDA onde as bactérias endofíticas, em confronto com os fungos isolados dos formigueiros, foram colocadas em pólos opostos de uma placa de Petri e a 1 cm da borda interna da placa. Em relação à inibição do isolado *L. gongylophorus*, 38 bactérias apresentaram resultados positivos os quais foram constatados pela distância entre as culturas pareadas *Aspergillus* sp. teve o crescimento inibido por 21 bactérias e *Trichoderma* sp. foi inibido por 19 bactérias. O isolado de levedura, teve o crescimento inibido por somente três antagonistas, mas atuou como agente inibidor da maioria das bactérias endofíticas. Na avaliação geral, seis bactérias endofíticas foram capazes de inibir todos os três fungos filamentosos do formigueiro mostrando-se promissoras para o controle dos fungos associados a formigas cortadeiras.

**Palavras-chave:** Controle biológico, Microrganismos, Formigas cortadeiras.

**Antagonist activity of bacteria endophytic of amazon plans against the fungi Symbiont *L. gongylophorus*, and fungi associated present in *Atta sexdens*.** Interactions between microorganisms sharing the same ecological niche are of fundamentally competitive features. This work aimed to determine the antagonist activity of 160 endophytic bacteria from Amazonian plants against microorganisms present in the nest of cutting ants *Atta sexdens*. The tests were performed *in vitro* by the method of paired cultures against and other symbiotic microorganisms, which were isolated from the ant nests. The focus of the studies were *L. gongylophorus* fungi, *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp. and yeasts. All antagonism tests were done on PDA medium where endophytic bacteria in comparison with the isolated fungal nests were placed at opposite poles of a Petri dish and 1 cm from the inner edge of the plate. In relation to inhibition of *L. gongylophorus* isolated, 38 were positive bacteria which have been found by the distance between the paired cultures *Aspergillus* sp. growth was inhibited by 21 bacteria and *Trichoderma* sp. It was inhibited by 19 bacteria. The isolated yeast, was growth inhibited for only three antagonists, but acted as an inhibitor of most endophytic bacteria. In the overall assessment, six endophytic bacteria were

<sup>1</sup> Docente UFAM – Campus do Instituto de Saúde e Biotecnologia – ISB/Coari, Estrada Coari Mamiá, 305, Bairro Espirito Santo, 69460-000, Coari, Amazonas Brasil – [adrianadantas1@gmail.com](mailto:adrianadantas1@gmail.com);

<sup>2</sup> Docente UFAM/FCA, Av. Gal Rodrigo Octávio, 6200, Coroado I, 69077-000, Manaus, AM Brasil – [antoniaqlsouza@yahoo.com.br](mailto:antoniaqlsouza@yahoo.com.br);

<sup>3</sup> Docente UFAM/ICB, Av. Gal Rodrigo Octávio, 6200, Coroado I, 69077-000, Manaus, AM Brasil – [cris.maki@gmail.com](mailto:cris.maki@gmail.com);

<sup>4</sup> Docente UFAM/FCA, Av. General Rodrigo Octávio, 6200, Coroado I, 69077-000, Manaus, Amazonas Brasil – [joseodairpereira@yahoo.com.br](mailto:joseodairpereira@yahoo.com.br);

<sup>5</sup> Docente UFAM/FCA, Av. General Rodrigo Octávio, 6200, Coroado I, 69077-000, Manaus, Amazonas Brasil – [nmerinato@gmail.com](mailto:nmerinato@gmail.com)



able to inhibit all three of filamentous fungi tingling showing great promise for the control of fungi associated with leaf-cutting ants.

**Keywords:** Biological control, Microorganisms, Leaf-cutting ants.

## 1. INTRODUÇÃO

A introdução de bactérias benéficas visando aumentar a produtividade de culturas é uma atividade praticada, empiricamente, há séculos (ROMEIRO, 2007). Intuitivamente, agricultores percebiam que adicionar ao solo comum solo onde leguminosas haviam sido cultivadas aumentava a produtividade do primeiro (BASHAN, 1998). Pesquisas foram sendo realizadas em torno dessa ideia e, em 1896, já era registrada a primeira patente nos EUA sobre o uso de *Rhizobium* sp. para inoculação de sementes (GONZAGA, 2012; NOBBE; HILTNER, 1896).

Também o conceito biológico de enfermidades de plantas, por práticas empíricas, remonta de longa data. Conforme Cook e Baker (1983), desde 5.000 a.C. os egípcios não tinham problemas com *Sclerotium cepivorum* em cebola, posto que as inundações cíclicas do rio Nilo se encarregavam de manter as margens cultiváveis cobertas com lâmina d'água, o que favorecia a prevalência, na microbiota do solo, de antagonistas naturais ao patógeno. A enfermidade, contudo, passou a ter importância após a construção da represa de Assuã, a qual alterou esse ciclo natural de inundações.

Os chineses, já por volta de 4.000 a.C., costumavam deixar o solo em repouso se a colheita era pobre, aumentando intuitivamente as chances de a população de antagonistas presentes na microbiota do solo recuperar-se. Os maias, 1.000 anos a.C., entremeavam fileiras de cravo-de-defunto nos campos de plantio usando esta planta, hoje reconhecida como efetiva antagonista a alguns nematóides, de forma intuitiva para seu controle biológico (KHAN et al., 1971).

Antes mesmo da invenção do microscópio, que permitiu a percepção científica da existência de microrganismos, e de ser jogada por terra a teoria da geração espontânea, Cook e Baker (1983) relatam

que se costumava recorrer a procedimentos curiosos para tratar ferimentos de podas, como aplicar fezes e urina (AUSTEN, 1657), pincelar uma mistura de esterco, cal e cinza ou mesmo vedar o fermento com lama conforme citado por Baker e Cook (1974). Obviamente, todos esses tratamentos implicavam dispensa, no local do ferimento, de material contendo uma diversificada e desconhecida microbiota, e é possível que alguns dos seus componentes exercessem alguma forma de antagonismo contra os patógenos-alvo.

Sutton e Peng (1993) lembram que, na Roma antiga, Plínio (420 a.C) menciona o uso de resíduos de extração de azeite de oliva como medida de controle das ferrugens. Adicionalmente, desde os tempos do Brasil Colônia até os dias que correm em pequenas propriedades da Zona da Mata de Minas Gerais, costuma-se “imunizar” (e esse é, exatamente, o termo empregado) o feijão recém-colhido, recobrimo-se a superfície dos grãos com lama preparada com terra de formigueiro, numa forma empírica de controle do carruncho (ROMEIRO; GARCIA, 2003).

Depois de 1850, com o desenvolvimento de técnicas de cultivo de microrganismos em meio líquido e, após 1880, em placas, foi-se percebendo a existência das interações antagonísticas entre microrganismos. Assim, Roberts (1874, citado por COOK e BAKER, 1983) cunhou o termo antagonismo ao perceber que bactérias tinham dificuldade de crescer em meio líquido contaminado por *Penicillium* sp.; no fim do século XIX. Segundo Madigan et al. (2003), Viullemmin em 1889, criou o termo antibiose ao constatar, *in vitro*, a inibição de microrganismos uns pelos outros.

Os primeiros trabalhos envolvendo a introdução consciente de antagonistas visando o controle biológico de enfermidades de plantas aconteceram no início do século XX, nas décadas de 1920-1940. Assim, Hartley (1921) dispensou em



solo de viveiros de mudas de essências florestais, fungos previamente selecionados *in vitro* como potenciais antagonistas, para o controle de tombamento. Também Millard e Taylor (1927) relatam haver reduzido a severidade da sarna (*Streptomyces scabies*) pelo uso do antagonista *S. precox* veiculado a fragmentos de grama, trabalhando em vasos com solo estéril. Interessantemente, *S. precox* não mostrou antagonismo *in vitro* contra o patógeno, mas causou decréscimo na população de *S. scabies*, veiculado ou não a fragmentos de grama. Henry (1931) selecionou actinomicetos, bactérias e fungos que, quando adicionados a solo estéril, proporcionam proteção relativa a plantas de trigo contra *Helminthosporium sativum*.

A partir da década de 1940, por todo o mundo, uma grande ênfase foi dada ao uso de fungos como agentes de biocontrole e também a estirpes atenuadas de vírus para imunização de plantas contra estirpes virulentas, passando por estudos com solos supressivos e micorrizas, numa evolução rápida, ainda que por etapas, da pesquisa com controle biológico de enfermidades de plantas (COOK e BAKER, 1983; BAKER e COOK, 1974). Parece que a comunidade científica havia percebido que antagonistas – quer introduzidos, quer autóctones – eram capazes de reduzir a severidade de doença.

O uso de organismos procaríotas para o biocontrole de enfermidades de plantas – uso este menos especulativo e de forma mais científica e direcionada – parece ter se iniciado há algumas décadas apenas. Talvez o mérito principal caiba a pesquisadores chineses, que iniciaram importantes trabalhos nas décadas de 1950 e 1960. Por exemplo, Yin et al. (1957, 1965) selecionaram uma cultura de *Streptomyces* sp. de uma coleção de 4.000 actinomicetos isolados de raízes de algodão e alfafa com forte atividade antagonista *in vitro* contra *Verticillium albo-atrum* e *Rhizoctonia solani*, à qual denominaram de “Strain 5406”. Por promover controle biológico das enfermidades incitadas pelos dois patógenos, foram usadas por mais de duas décadas em plantios comerciais. Também merecem menção os trabalhos do grupo do Dr. Chen (CHEN et al., 1996) sobre a

experiência chinesa, desde a década de 1960 até os dias que correm, com o uso rotineiro de rizobactérias como ativadoras de defesas e como promotoras de crescimento de plantas. A microbiolização de sementes, antes do plantio, com propágulos de rizobactérias, tem sido prática agrônômica rotineira na China continental onde o governo se encarrega de distribuir aos agricultores 3.000 toneladas de formulações de células de rizobactérias todos os anos, para serem utilizadas em 35.000.000 de hectares. Talvez por razões políticas que motivaram o isolamento da República Popular da China em todos os níveis, de intercâmbio científico inclusive, talvez pela própria filosofia de pesquisa e enfoque de problemas, somente em tempos recentes o mundo ocidental tem tomado conhecimento e percebido a incomensurável potencialidade do desenvolvimento de tecnologias específicas para ativação de mecanismos de defesa de plantas como alternativa inteligente ao uso indiscriminado de agrotóxicos.

No mundo ocidental, na década de 1970, são dignas de nota pesquisas com bactérias promotoras de crescimento de plantas (PGPR) em países como Inglaterra, Austrália e Rússia (antiga URSS). Os trabalhos de (BROADBENT et al., 1971) com bactérias de solo – rizobactérias – tanto na promoção de crescimento como no controle biológico de doenças não podem ser esquecidos.

Também nas décadas de 1970 e 1980, não podem deixar de ser mencionadas as pesquisas do australiano Allen Kerr e seus colaboradores, da Universidade de Adelaide, na Austrália. No início da década de 1970, o grupo de trabalho de Kerr obteve, de solo, isolamento de *A. radiobacter* (saprófitas) fortemente antagonistas a *A. tumefaciens* *in vitro*. A continuidade das pesquisas mostrou que esse antagonismo era também exercido *in vivo*, estabelecendo-se assim o primeiro caso de controle biológico de uma bacteriose de planta que realmente funciona em campo, adotado como prática cultural rotineira em muitos países do mundo (KERR, 1979; 1980; KERR e TATE, 1984). O controle fundamenta-se, principalmente, na produção



de uma bacteriocina, denominada Agrocina 84, produzida por certos isolamentos de *A. radiobacter* (saprófita), notadamente pelo isolamento-padrão K84.

Na década de 1980, os trabalhos de Milton Schroth e seu grupo, nos EUA, foram de imensa importância na pesquisa com controle biológico. Fora da China talvez fosse onde mais se trabalhava com rizobactérias, quer como promotora de crescimento de plantas quer como agentes de controle biológico (SCHROTH e BECKER, 1990) e muita ênfase se deram a espécies de *Pseudomonas* e a sideróforos (KLOEPPER et al., 1981).

Com o avanço dos conhecimentos científicos e a melhoria das técnicas microscópicas, tem-se constatado que os insetos são seres altamente infestados por microrganismos. Esse fato apresenta uma grande importância e torna ainda mais complexo o trabalho dos patologistas de insetos que se dedicam ao estudo por determinação dos agentes das doenças, dos sintomas e outros tipos de relacionamentos e interações entre insetos e microrganismos, incluindo o estudo do controle microbiano de pragas (ALVES, 1998).

Os microrganismos podem estar presentes internas ou externamente ao corpo dos insetos, mantendo ou não relações complexas com os mesmos. A maioria das relações ecológicas entre microrganismos e insetos é construtiva, resultando em benefícios aos insetos, aos microrganismos ou a ambos (ALVES, 1998).

## **2. MATERIAL E MÉTODO**

### **2.1 Atividade Antagonista *in vitro***

O antagonismo foi ensaiado pelo método de cultura pareada, ou simplesmente pareamento, que consistiu no confronto direto do antagonista (bactérias endofíticas) e do fungo simbionte *L. gongylophorus* e seus fungos associados.

Foram utilizados da coleção do LABGEMMA (Laboratório de Genética de Microrganismos Amazônicos, da Universidade Federal do Amazonas), 160 bactérias endofíticas de diferentes plantas da Amazônia (Ej – *Peperomia* sp.; Dg – *Duguethia stelachanta*; Ansp – *Rollinia* sp.;

Cosp – *Malvaviscus* sp.; Pp – *Pothomorphe peltata*; Stsp – *Strychnos* sp.; Cj- *Arrabidaea* sp. e Qp- *Phyllanthus* sp) que apresentaram anteriormente em outros testes ação antifúngica ou antibacteriana.

Os fungos simbiontes foram cultivados em placas de Petri com meio BDA (Batata Dextrose Ágar), pH 6,8 a 28 °C, de 7 a 14 dias. Com o auxílio de um vazador de rolhas, foram retirados cilindros de ágar de 5 mm de diâmetro, das bordas das colônias dos fungos em crescimento. As bactérias endofíticas foram inoculadas em BDA, por 18 a 22 horas a 37 °C. Após este período, foram coletadas por meio de uma alça de platina e a seguir também transferidas para as placas do ensaio.

O cilindro de meio de cultura contendo o fungo alvo a ser inibido bem como a bactéria atuando como possível agente inibidor foram colocados em polos opostos equidistantes a 1 cm da borda interna da placa de Petri onde seriam realizados os ensaios. Durante a incubação, foi analisada a inibição do crescimento do fungo simbionte. Os testes foram realizados em triplicata e foram utilizados como controle placas contendo somente o fungo.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÕES**

Após a identificação taxonômica dos fungos associados às formigas cortadeiras *A. sexdens* foram iniciados os testes de antagonismo. Para os testes foram utilizadas 160 bactérias endofíticas de diferentes plantas medicinais da Amazônia, estas bactérias apresentaram anteriormente ação antifúngica e antibacteriana mostrando-se como promissora ferramenta para o controle destes fungos.

Trabalhos utilizando amostras dessas bactérias foram realizados anteriormente por Lima et al. (2010) que avaliaram antagonismo contra *Candida albicans*. Algumas dessas bactérias endofíticas apresentaram resultados positivos de antibiose contra *C. albicans* e outras apresentaram micoparasitismo. Estes resultados sugerem que a biodiversidade de bactérias endofíticas de plantas arbóreas da Amazônia pode ser uma rica fonte de



antifúngicos e de outras substâncias de valor biotecnológico.

Portanto, com resultados tão promissores em outros experimentos optou-se por utilizar 160 bactérias para o controle dos fungos associados às formigas cortadeiras: *L. gongylophorus*; *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., e leveduras. Os testes de antagonismo foram realizados pelo método de cultura pareada ou simplesmente pareamento, que consiste no confronto direto do antagonista (bactérias endofíticas) e dos fungos simbiontes.

O teste de antagonismo contra o fungo *L. gongylophorus* foi realizado no mês de janeiro de 2010. Das 160 bactérias endofíticas utilizadas 38 apresentaram resultado positivo de antagonismo (antibiose). Todos os testes foram realizados em triplicata tendo como meio de cultura BDA (Batata Dextrose Agar).

Testes realizados com extratos vegetais de *Cedrela fissilis*, conhecida popularmente como cedro ou cedro real, contra as formigas cortadeiras *Atta sexdens* e seus fungos associados mostraram que extratos brutos de fruto, galho, caule e folha, alguns foram inativos e outros inibiram no máximo 40% o desenvolvimento do fungo (extratos brutos hexânico, ambos de galho e folha). Dos extratos brutos da raiz, os que apresentaram melhor atividade foram o hexânico e o diclorometânico, ambos inibindo em 100 % o crescimento do fungo simbionte na concentração de 1000 g/mL (GODOY et al., 2003).

Certos fungos apresentam potencial para utilização no controle biológico de formigas cortadeiras. Segundo Queiroz (1996), os fatores de mortalidade mais importantes para rainhas de *Atta mexicana* são os fungos entomopatogênicos. Em levantamentos realizados pelo autor, no México, foram identificadas as espécies *Aspergillus parasiticus*, *Paecilomyces farinosus*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* e *Metarhizium* sp., destacando-se nos ensaios de patogenicidade *Bauveria bassiana* e *P. farinosus*, como os mais promissores para controle biológico de *A. mexicana*. No Brasil, a maioria dos estudos tem sido

realizada com *B. bassiana* e *M. anisopliae*, entretanto os resultados ainda não são conclusivos.

Alves e Sosa-Gomez (1983) relatam a ocorrência destes fungos em rainhas de *Atta sexdens rubropilosa*, provocando a mortalidade em operárias, em condições de laboratório. Em floresta de *Eucalyptus grandis*, resultados promissores foram obtidos com a utilização de *B. bassiana*, em iscas, para controle de *Acromyrmex* spp. (DIEHL-FLEIG et al., 1992). No entanto, o controle biológico microbiano de formigas cortadeiras tem sido questionado devido ao fato destes insetos sociais reconhecerem agentes patogênicos e emitirem reações comportamentais de defesa (KERMARREC et al., 1986).

Obtivemos, portanto dos 160 testes de antagonismo utilizando bactérias endofíticas de plantas medicinais da Amazônia, 38 resultados positivos para a atividade antagonista do tipo antibiose, 55 resultados moderados e/ou médios da atividade antagonista, 64 de resultado negativo para atividade antagonista e em 03 bactérias apresentaram-se contaminada por outro microrganismo.

Além disso, neste primeiro teste foi medido o espaçamento da área onde se encontrava inoculado o fungo e a bactéria. Neste sentido, podemos verificar que as bactérias: LB 18/03 QPC1 1.1; LB 04/03 COSP 42/32; LB 20/03 QPR1 2.2; LB 20/03 QPR2 3.2; ISP2 09/03 LB CJF 1.2; ISP2 09/03 CJRCO 1.1, mostraram-se com um maior espaçamento entre o fungo e as bactérias quando comparado com as demais, mas tal fato não descarta a possibilidade das outras bactérias serem utilizadas como antagonistas contra o fungo *L. gongylophorus*.

Atualmente têm se realizado estudos com algumas espécies botânicas para o controle do jardim de fungos associados às formigas cortadeiras, sendo um dos destaques, *Trichilia emetica*, conhecida por possuir atividades contra *Schistosoma haematobium* (SPARG et al., 2000). Alguns trabalhos com diferentes espécies de *Trichilia* relataram a presença de tetranotriprenóides nas raízes, com atividade



deterrente (SIMMONDS et al., 2001), bem como o isolamento de limonóide da casca do caule (CORTEZ, 2000).

Resultados obtidos com os extratos de *Trichilia* sp. sobre o desenvolvimento do fungo simbionte mostraram que os extratos e frações de folha não inibiram ou inibiram discretamente (20%) o fungo. Resultados mais expressivos foram obtidos com os extratos hexânicos brutos de galho e dos frutos, ambos inibindo em 60% o crescimento do fungo. Do fracionamento dos extratos de galhos (GODOY, 2003) obteve a fração mais ativa que apresentou inibição de cerca de 40%. As análises das frações mostraram que os principais compostos presentes eram os ácidos graxos hexadecanóico e oléico. Estes resultados vieram a confirmar os ensaios realizados por Simmonds et al. (2001) que, analisando a atividade de ácidos graxos variando o número de carbonos de 6 a 31, verificou que a toxicidade para o fungo esteve entre 6 a 12 carbonos, sendo que, maiores cadeias carbônicas resultaram na perda da atividade. Outro fator verificado foi que o grau de insaturações favorecia a atividade antifúngica destes compostos. Segundo Godoy (2003), o ácido hexadecanóico (palmítico) na concentração de 100 mg/mL não inibiu o fungo, enquanto que o ácido oléico na mesma concentração inibiu o desenvolvimento do fungo em 40%. Já o ácido linoléico e o linolênico inibiram 80% o fungo também na concentração de 100 mg/mL.

No segundo teste de antagonismo, verificou-se que a levedura isolada do jardim de fungos simbiontes inibiu o crescimento da maioria das bactérias endofíticas utilizadas como antagonistas. Também foram obtidos poucos resultados positivos de antagonismo das bactérias endofíticas contra a levedura. Magliani et al. (1997), descrevem que algumas leveduras podem secretar compostos (micocinas ou toxinas killer), geralmente glicoproteínas antagonicas para outras espécies de leveduras. Dentre as estirpes isoladas de ninhos de *A. sexdens* por Carreiro et al. (2002), foi constatada a presença de atividade “killer” em espécies de

*Aureobasidium*, *Candida*, *Cryptococcus*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Torulasporea*, *Tremella* e *Trichosporon*. Essa atividade killer pode ser um instrumento para a manutenção da estrutura da comunidade de leveduras (CARREIRO et al., 2002).

A pesquisa de Rodrigues e colaboradores (2009) mostraram que o antagonismo de leveduras isoladas de ninhos de *A. texana* em relação ao fungo parasita *Escovopsis*, sendo que as espécies *Bullera sinensis*, *Cryptococcus magnus* e espécies de *Pseudozyma* inibiram significativamente as duas estirpes de *Escovopsis* testadas. Esta observação evidenciou um papel biológico das leveduras até então desconhecido em relação à defesa do ninho contra *Escovopsis*.

Por outro lado, Little e Currie (2007) encontraram um possível novo simbionte associado a formigas da espécie *Apterostigma pilosum*, uma Attini basal. Leveduras negras do gênero *Phialophora* foram isoladas da cutícula, na região do tórax, isto é, no mesmo local em que as bactérias simbiontes se encontram. Elas podem utilizar nutrientes diretamente da *Pseudonocardia*, o que promove o crescimento dessas leveduras e diminui o crescimento da *Pseudonocardia*, dessa forma interferindo de modo negativo na proteção aos ninhos. Assim poderiam reduzir o crescimento das bactérias produtoras de antibióticos que inibem o fungo *Escovopsis*. Portanto, as leveduras negras podem sinergizar indiretamente a infecção por *Escovopsis* nos ninhos dessas formigas (LITTLE e CURRIE, 2008).

Muitos dos gêneros e espécies de formigas nunca foram estudados quanto à ocorrência e características das leveduras associadas aos seus ninhos, principalmente, com ninhos de Attini não cortadeiras, mostrando uma nova linha promissora de pesquisas.

No teste seguinte, das 160 bactérias endofíticas utilizadas no confronto direto contra o *Trichoderma* sp., dezenove (19) apresentaram resultado positivo para antagonismo, nove (9) apresentaram resultado moderado e cento e trinta e dois (132) apresentaram resultado negativo.



Mendes (2010) realizou um experimento para a avaliação da atividade antagonista das actinobactérias sobre os fungos filamentosos isolados do jardim de fungo de *Trachymyrmex* sp. (grupo Iheringi) mostrando que das 38 actinobactérias isoladas, apenas 9 (23,68%) apresentaram inibição do crescimento de pelo menos um dos fungos filamentosos isolados do jardim de fungo de *Trachymyrmex* sp. (grupo Iheringi) (*Fusarium solani*, *Mucor* sp. e *Trichoderma spirale*).

Diversos autores têm relato a presença de actinobactérias não pertencentes ao gênero *Pseudonocardia* associadas a formigas Attini (ZUCCHI, et al., 2010; HARDER et al., 2009; MUELLER et al., 2008; KOST et al., 2007). Estas actinobactérias podem não fazer parte da simbiose e sim serem apenas transitórias ou frutos de contaminação.

Porém, actinobactérias não-*Pseudonocardia* isoladas do exoesqueleto de operárias apresentaram forte atividade sobre o crescimento de *Escovopsis*, maior atividade se comparada com as estirpes de *Pseudonocardia* spp. e também inibiram o crescimento dos fungos *Fusarium solani*, *Mucor* sp. e *Trichoderma spirale*, sugerindo que estas bactérias, além de controlarem o crescimento do *Escovopsis* também podem atuar na defesa do ninho contra outros fungos. Aparentemente, muitas actinobactérias contribuem para a não contaminação dos ninhos de Attini produzindo compostos antimicrobianos (MENDES, 2010).

Outro teste de antagonismo foi realizado por Favarin (2005) testando linhagens de *Streptomyces*, o qual mostrou resultados de inibição da germinação dos conídios de todas as linhagens do fungo *Escovopsis weberi*. Houve inibição da germinação dos conídios até mesmo com a adição da menor concentração dos filtrados testada, ou seja, para uma proporção de 10 % do filtrado, obtiveram cerca de 80 % de germinação dos conídios, e com o aumento da concentração dos filtrados incorporados ao meio de cultivo, a porcentagem de germinação dos conídios diminuiu, sendo totalmente inibidos quando testados com a

adição da maior concentração de filtrados, 50%.

O quarto teste de antagonismo foi realizado com o fungo isolado *Aspergillus flavus*, este teste foi realizado com duas metodologias diferentes para a adequação e verificação dos resultados, mas ambos apresentaram resultados positivos, entre os mesmos destacaram-se 21 bactérias endofíticas com resultados positivos de antagonismo para este fungo, dez com resultado de antagonismo moderado e 129 apresentando resultados negativo.

Após a realização de todos os testes de antagonismo (*Leucoagaricus gongylophorus*, *Levedura*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Aspergillus flavus*), os dados foram reunidos em planilhas com os resultados mais promissores e foram escolhidas as bactérias que proporcionaram um resultado positivo em 3 ou 4 testes.

Como observado das 160 bactérias endofíticas utilizadas nos testes de antagonismo apenas seis apresentaram ação antagonista contra, pelo menos, três fungos simbiotes (QPC2 2.1, QPF2 2.3, QPF2 3.1, QPF1 3.2, QPF2 2.2, QPR2 3.3). Tais bactérias foram, portanto, utilizadas para os testes *in vivo*.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Bactérias endofíticas conhecidas inicialmente como assintomáticas passaram a ter destaque já que cada vez mais, novas funções e atividades vêm sendo atribuídas aos microrganismos endofíticos, conseqüentemente, vão surgindo novas possibilidades para o uso desses microrganismos em processos biotecnológicos. Fungos e bactérias endofíticas estão sendo utilizados no controle biológico como vetores para introdução de genes em plantas e como produtores de fármacos (ZHANG et al., 2006; STROBEL e DAISY 2003; BILLS et al., 2002; SALLES et al., 2000).

Os endófitos produzem enzimas, antibióticos, substâncias anticancerígenas, gomas, auxinas, giberelinas. São responsáveis pela fixação do nitrogênio, podem solubilizar fosfatos e ser usados como agentes de controle biológico etc.



(SOUZA, 2006; STROBEL, 2002; STROBEL et al. 1996).

A maioria dos estudos com os microrganismos endofíticos se concentra em plantas de climas temperados e somente mais recentemente esses estudos se voltaram para as plantas de clima tropical sendo que, também nestes casos, resultados interessantes vêm se confirmando e até ampliam-se as perspectivas de aproveitamento biotecnológico (SAMUELS, 2004; SOUZA et al., 2004; STROBEL, 2002; HANADA et al., 2009).

Considerando a importância dos microrganismos, o pouco que se conhece da biodiversidade existente e ainda diante dos resultados obtidos nesta pesquisa onde explorou-se novos métodos de controle biológico de formigas cortadeira, justificam-se novas pesquisas com essa abordagem utilizando-se os microrganismos endofíticos. A biodiversidade microbiana no interior das plantas é quase que totalmente desconhecida e especialmente nas plantas da Amazônia. Os dados de pesquisa nessa área na região ainda são preliminares, frutos de poucas teses, dissertações e de trabalhos de iniciação científica (PEREIRA et al., 2007).

O fato de alguns endofitas exercerem atividade antagonística contra fitopatógenos, em bioensaios, *in vitro*, pode sugerir uma potencialidade como agentes de biocontrole. Tal fato corrobora para os resultados vistos neste trabalho onde bactérias endofíticas utilizadas nos testes de antagonismo contra os fungos associados das formigas cortadeiras comprovaram ação antagonista, mostrando-se, *in vitro*, promissoras para o controle dos fungos associados a formigas cortadeiras, e indiretamente viabilizando-se o controle das próprias formigas.

Para estas seis bactérias com resultado positivo foi realizado o “pull das bactérias”, ou união das mesmas, para futuros testes de mortalidade *in vivo* contra formigueiros.

### **Divulgação**

Este artigo é inédito e não está sendo considerado para qualquer outra publicação. Os autores e revisores não relataram

qualquer conflito de interesse durante a sua avaliação. Logo, a revista *Scientia Amazonia* detém os direitos autorais, tem a aprovação e a permissão dos autores para divulgação, deste artigo, por meio eletrônico.

### **5. REFERÊNCIAS**

ALVES, S.B.; SOSA GOMEZ, D.R. 1983. Virulência do *Metharhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. e *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. para castas de *Atta sexdens rubropilosa* (Forel, 1908). **Poliagro**, v.5, n.1, 1-9 p.

ALVES, S.B. 1998. Patologia e controle microbiano: Vantagens e desvantagens, p.21-37. In S.B. Alves (ed.), **Controle Microbiano de Insetos**. Piracicaba, FEALQ, 1163p.

AUSTEN, R. A. 1657. **A Treatise of fruit trees**. Henery Hall, Oxford.

BAKER, E. F.; COOK, R.J. 1974. **Biological control of plant pathogens**. W.H. FREEMAN; CO. SANFRANSISCO, 433pp.

BASHAN, Y. 1998. Inoculants of plant growth-promoting bacteria for use in agriculture. **Biotechnol. Adv.** 16:729-770 p.

BASHAN, Y.; LEVANONY, H. 1991. Alterations in membrane potential and in proton efflux in plant roots induced by *Azospirillum brasilense*. **Plant Soil** 137:99-103 p.

BILLS, G., A.; DOMBROWSKI, F.; PELAEZ, J.; POLISHOOK; AN, Z. 2002. Recent and future discoveries of pharmacologically active metabolites from tropical fungi. 165–194 pp. In: Watling R., Frankland J. C., Ainsworth A. M., Issac S.; Robinson C. H.. (ed.), **Tropical mycology: micromycetes**; v. 2. CABI Publishing; New York - N.Y.

BONATERRA, A.; MARI, M.; CASALINI, L.; MONTESINOS, E. 2003. Biological control of *Monilinia laxa* and *Rhizopus stolonifer* in postharvest of stone fruit by *Pantoea agglomerans* EPS125 and putative mechanisms of antagonism. **International Journal of Food Microbiology**, Oxford, v. 84, 93-104 p.



- BROADBENT, P., FRASER, L. R.; LONG, J. K. 1971. Exocortis virus in dwarfed citrus trees. **Plant Dis. Rep.** 55: 998-99 p.
- CARREIRO, S.C.; PAGNOCCA, F.C.; BACCI, M, JR.; BUENO, O.C.; HEBLING, M.J.;MIDDELHOVEN, W.J. 2002. Occurrence of killer yeasts in leaf-cutting ant nests. **Folia Microbiol. (Praha)**. 47, 259–262 p.
- CARREIRO, M.M., SINSABAUGH, R.L., REPERT, D.A., PARKHURST, D.F., 2000. Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition. **Ecology** 81, 2359–2365 p.
- CHEN, I.-C. K., COFFEY, J. T., MUDGE, T. N. 1996. **Analysis of Branch Prediction Via Data Compression**. In *ASPLOS VII*, Cambridge, Massachusetts. 128-137 p.
- CHEN-SHAN CHIN.; MANOJ PRATIM SAMANTA. 2003. Global snapshot of a protein interaction network -- a percolation based approach. **Bioinformatics**, 19, 2413-2419 p.
- CHIN, J.W., CROPP, T.A., ANDERSON, J.C., MUKHERJI, M., ZHANG, Z., SCHULTZ, P.G. 2003. An expanded eukaryotic genetic code. **Science** 301: 964–967 p.
- CHIN-A-WOENG, T.F.C.; BLOEMBERG, G.V.; LUGTENBERG, B.J.J. 2003. Phenazines and their role in biocontrol by *Pseudomonas* bacteria. **New Phytologist**, v.157, 503-523 p.
- COOK, R.J.; K.F. BAKER. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. Amer. **Phytopathol. Soc. Press**, St. Paul, Minn.
- CÔRTEZ, M.I.S. 2000. **Epidemiology of traumatic injuries to permanent teeth and the impact on the daily living of Brazilian schoolchildren**. Tese de Doutorado. Londres: Department of Epidemiology and Public Health, University College London. 247 p.
- DARNELL, J., LODISH, H., BALTIMORE, D. 1990. Actm, myosin, and intermediate filaments: cell movements and cell shape. In: Darnell J, Lodish H, Baltimore D, eds. *Molecular Cell Biology*. 2nd ed. New York: **Scientific American Books**, 859-902 p.
- DIEHL-FLEIG, E.; SILVA, M.E. DA; BORTOLÁS, E.P. 1992. Emprego do fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* em iscas para o controle das formigas cortadeiras *Acromyrmex* spp. em floresta implantada de *Eucaliptus grandis*. In: **Congresso Florestal Estadual, 7**, Nova Prata, RS. Anais. Nova Prata, 1139-50 p.
- DUFFY, V.B., PETERSON, J.M., BARTOSHUK, L.M. 2004. Associations between taste genetics, oral sensation and alcohol intake. *Physiol Behav* 82:435– 445 p.
- DUFFY, K. 2003. Failing Students: a Qualitative Study of Factors that Influence the Decisions Regarding Assessment of Students' Competence in Practice.
- EL-TARABILY, K.A., HARDY, G.E., SIVASITHAMPARAM, K., HUSSEIN, A.M., KURTBOË KE, I.D. 1997. The potential for the biological control of cavity spot disease of carrots caused by *Pythium coloratum* by streptomycete and non-streptomycete actinomycetes in Western Australia. **New Phytologist**. 137, 495-507 p.
- FAVARIN, J. L.; NETTO, J. A. F.; GALLO, L. A.; SALGADO, P. R.; BERNARDES, M. S.; FAVARIN, J. L.; CAMARGO, F. T. 2005. **Atividade diária da redutase do nitrato e glutamina sintetase em cafeeiro arábica**.
- FAVARIN, J.L.; MARINI, J.P. 2000. **Importância dos micronutrientes para a produção de grãos**. In: SOCIEDADE NACIONAL DA AGRICULTURA.
- FLANAGAN, N., TOBLER, A., DAVISON, A., PYBUS, O.G., KAPAN, D.D., PLANAS, S. 2004. The historical demography of Müllerian mimicry in the Neotropical *Heliconius* butterflies. **Proc Natl Acad Sci USA** 101: 9704–9709 p.
- FREIGOUN, S.O., CROSSE, J.E., 1975. Host relations and distribution of a physiological and pathological variant of *Pseudomonas morsprunorum*. **Annals of Applied Biology** 81: 317- 330 p.
- FREIGOUN, S.O., EL FAKI, H.I., GELIE, B., SCHIRMER, M., LEMATTRE, M. 1994. Phage sensitivity in relation to pathogenicity and virulence of the cotton bacterial blight pathogen of Sudan. **Plant Pathology (Oxford)** 43:493-499 p.
- GODOY, H.; REICHART, P. A. 2003. Oral Manifestations of Paracoccidioidomycosis.



Report of 21 Cases from Argentina.  
**Mycoses.** V 46, 412-417 p.

GOTO Y, NONAKA I, HORAI S. 1990. A mutation in the tRNA(Leu)(UUR) gene associated with the MELAS subgroup of mitochondrial encephalomyopathies.  
**Nature.** 13;348 (6302):651-3 p.

GONZAGA, A. D. 2012. Antagonismo de bactérias endofíticas de plantas da Amazônia contra o jardim de fungos associados a formigas cortadeiras *Atta sexdens* Hymenoptera (Formicidae: Attini). 2012. **Tese** (Doutorado em Biotecnologia), Centro de Apoio a Pesquisa (CAM), Universidade Federal do Amazonas, Manaus-AM.

GRATIA, A. 1925. C. R. Soc. Biol. (Paris), 93, 1040.

GROSS, D. C.; VIDAVER, A. K. 1979. Bacteriocins of phytopathogenic *Corynebacterium* species. **Canadian Journal of Microbiology**, Ottawa, v. 25, p. 367-374 p.

GROSS, D. C.; VIDAVER, A. K.; KERALIS, M. B. 1979. Indigenous plasmids from phytopathogenic *Corynebacterium* species. **Journal of General Microbiology**, London, v. 115, 479-489 p.

HANADA, R. E.; T. DE JORGE SOUZA; POMELLA, A. W.; HEBBAR, K. P.; PEREIRA, J. O.; ISMAIEL, A.; SAMUELS, G. J. 2008. *Trichoderma martiale* sp. nov., a new endophyte from sapwood of *Theobroma cacao* with a potential for biological control. **Mycological Research** v. 112, 1335-1343 p.

HANADA, R. E.; POMELLA, A. W.V.; SOBERANIS, W.; LOGUERCIO, L. L.; PEREIRA, J. O. 2009. Biocontrol potential of *Trichoderma martiale* against the black-pod disease (*Phytophthora palmivora*) of cacao. **Biological Control**, v. 50, p. 143-149 p.

HARDER, J. W., FONTENLA, J. M. P. PILEWSKIE, E. RICHARD, C. WOODS, T. N. 2009. Trends in solar spectral irradiance variability in the visible and infrared, **Geophys.**

HANDELSMAN, J., STABB, E.V. 1996. Biocontrol of soil borne plant pathogens. **Plant Cell** 8: 1855-1869 p.

HARTLEY C. 1921. Damping – off in forest nurseries. **US Dept Agric Bull** 934, 1-99 p.

HENRY, D. C. 1931. **Proc. Roy. Soc. Ser. A.** 133:106.

HSIEH K, HELLER T, MILLER AB. 2001. Risk factors for injuries and falls among adults with developmental disabilities. **J Intellect Disabil Res** 45:76-82 p.

ISHMARU, C. A.; KLOS, E. J.; BRUBAKER, R. R. 1988. Multiple antibiotic production by *Erwinia herbicola*. **Phytopathology**, v. 78, 746-750 p.

JACOB, F., LWOFF, A., SIMINOVICH, A., WOLLMAN, E. 1953. Définition de quelques terms relatifs à La lysogénie. **Ann. Inst. Pasteur**, 84: 222-224 p.

JACK, R. W., TAGG, J. R., RAY, B. 1995. Bacteriocins of gram-positive bacteria. **Microbiological Reviews**, 171: 171-200 p.

KERMARREC, A.; FEBUAY, G.; DE CHARME, M. 1986. Protection of leaf-cutting ants from biohazards: is there future for microbiological control? In: LOFGREN, C.S. e VANDER MEER, R.K. Fire ants and leaf-cutting ants - biology e management. **Westview Press**, 339-56 p.

KEMPF, H.J.; WOLF, G. 1989. *Erwinia herbicola* as a biocontrol agent of *Fusarium culmorum* and *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* on wheat. **Phytopathology**, St. Paul, v.79, p.990- 994 p.

KERR, A.R., 1979. Noise and loss in balanced and subharmonically pumped mixers: Part II – Application. **IEEE Trans. Microwave Theory Tech.**, **MTT-27**, 944-950 p.

KERR, A. 1980. Biological control of crown gall through production of Agrocin 84. **Plant Disease**, v.64, 24-30 p.

KERR, A., TATE, M. E. 1984. Agrocins and the biological control of crown gall. **Microbiol Sci**, 1 : 1-4 p.

KHAN, A. M., SAXENA, S. K., SIDDIQI, Z. A. 1971. Efficacy of *Tagetes erecta* in reducing root infesting nematodes of tomato and okra. **Indian Phytopathology** 24: 166-169 p.

KHAN, H. A., QAMAR, F. SAEED, M., KHAN, S. A. 1990. The nematicidal properties of



compounds of plant origin with emphasis on polyphenols - a review. **Proceedings of Parasitology** 9(No. 1): 87-91 p.

KLOEPPER, J. W.;SCHORTH, M.N. 1981. Plant growth promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. **Phytopathology** 71:642-644 p.

KOST, M.A., D.A. ALBERT, J.G. COHEN, B.S. SLAUGHTER, R.K. SCHILLO, C.R. WEBER, CHAPMAN, K.A. 2007. Natural communities of Michigan: Classification and description. Michigan Natural Features Inventory, **Report Number**, Lansing, MI. 314 p.

KURYLOWICZ, W. 1981. *Antibióticos - Uma revisão crítica*, Editora Universitária – Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 341 p.

LI, J., BARREDA, D.R. ZHANG, Y. BOSHRA, H. GELMAN, A.E. 2006. B-Lymphocytes from early vertebrates have potent phagocytosis abilities. **Nat. Immunol.**, 7: 1116-1124 p.

LIM, G., LIM, T. YAHAYA, H. 2002. The first report of the national cancer registry: Cancer incidence in Malaysia 2002. National Cancer Registry of Malaysia.

LIMA, A. M., MELO, J. L. S., MELO, H. N. S., CARVALHO, F. G. 2010. Avaliação do potencial fitorremediador da mamona (*Ricinus communis* L) utilizando efluente sintético contendo chumbo. *Holos*, Ano 26, Vol. 1 51 p.

LITTLE, A.E.F., CURRIE, C.R. 2007. Symbiont complexity: discovery of a fifth symbiont in the attine ant-microbe symbiosis. **Biology Letters** 3:501-504 p.

LITTLE, A.E.F CURRIE, C.R. 2008. Black yeast symbionts compromise the efficiency of antibiotic defenses in fungus-growing ants. **Ecology** 89:1216-1222 p.

LYVER, P., S. HAMILTON, M. MCKENZIE, I. DICKSON, M. DOOHER, T. BROAD, MOLLER, H. 1998. Construction and reliability of an infra-red camera for examining nests in burrows. **Conservation Advisory Science Notes** 209:1-21 p.

MADIGAN, M.T., MARTINKO, J.M., PARKER, J. 2003. **Brock: Biology of Microorganisms**. Prentice Hall.

MADIGAN, et al. 2003. **Brock: Biología de los microorganismos**. (10ª edición). Ed. Pearson-Prentice-Hall, Madrid. 66- 91 p.

MADIGAN, M. P. 2000. **Biology of Microorganisms**, 9th edition. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ.

MAGLIANI, W., CONTI, S., GERLONI, M., BERTOLOTTI, D. POLONELLI, L. 1997. Yeast killer systems. **Clin Microbiol Rev** 10: 369-400 p.

MAGLIANI, W., CONTI, S., SALATI, A., ARSENI, S., RAVANETTI, L., FRAZZI, R. POLONELLI, L. 2004a. Engineered killer mimotopes: new synthetic peptides for antimicrobial therapy. **Curr Med Chem** 11: 1793-1800 p.

MAGLIANI, W., CONTI, S., SALATI, A., VACCARI, S., RAVANETTI, L., MAFFEI, D.L. POLONELLI, L. 2004. **Therapeutic potential of yeast killer toxin-like antibodies and mimotopes**. *FEMS Yeast Res* 5: 11-18 p.

MENDES, T. D. 2010. **Atividade antimicrobiana de actinobactérias isoladas de formigas Attini (Hymenoptera: Formicidae)**. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Aplicada) Instituto de Biociências, UNESP Rio Claro, 94 p.

MILLARD, W. A., TAYLOR, C. B. 1927. Antagonism of micro-organisms as the controlling factor in the inhibition of scab by green-manuring. **Ann. Appl. Biol.** 14, 202-216 p.

MUELLER, U.G.; REHNER, S.A.; SHULTZ, T.R. 1998. The evolution of agriculture in ants. **Science**, 281: 2034-2038 p.

NOBBE, F.; HILTNER, L. 1896. **Improvements relating to the inoculation of soil for the cultivation of leguminous plants**. British patent n. 11,460.

PIERSON, C.T., MCELROY, G.K., BLITVICH, J.D., SUBIC, A. BLANKSBY, B.A. 1998. A comparison of the swimming start using traditional and modified starting blocks. **Journal of Human Movement Studies**, 34, 49 – 66 p.

PEREIRA, J. O.; SOUZA, A. Q. L.; HANADA, R. E. 2007. Diversidade de Microorganismos



Endofíticos de Plantas da Amazônia Brasileira. In: In: Coata-Maia, L; Malosso, E.; Yano-melo, A. M.. (Org.), ed. Recife. (Org.).

**Micologia: avanços no conhecimento.** 01 ed. Recife: Sociedade Brasileira de Micologia, v. 01, 141-148 p.

POPPE, K., GLINOER, D. TOURNATE, H. DEVEROEY, P. A. VAN STIERTEGHEM, L. K., VELKENIERS, B. 2003. Assisted reproduction and thyroid auto immunity: An unfortunate combination? **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 88: 4149-4152 p.

QUIROZ, L. J.V. 1996. Factores de mortalidad natural de reinas de *Atta mexicana* (Fr. Smith) en el Estado de Morelos, México. In: **Congreso Latinoamericano de Entomologia**, 6, Mérida, Yucatán, 1996. Memorias. Mérida: Sociedad Mexicana de Entomologia, 56 p.

RILEY, M. A. 1998. Molecular mechanisms of bacteriocin evolution. **Annual Review of Genetic**, 32: 255-278 p.

ROBIN E, TERRIS B, VALVERDE A, MOLAS G, BELGHITI J, BERNADES P, RUSZNIEWSKI P. 1997. Pancreatoblastoma in adults. **Gastroenterol Clin Biol**; 21:880-3 p.

RODRIGUEZ, J. S., ALEXOPOULOS, L.G. J. SAMAGA, E. R., LAUFFENBURGER, D. A., KLAMT, S., SORGER, P. K. 2009. **Molecular Systems Biology**, 5:331 p.

ROMEIRO, R. S.; GARCIA, F. A. O. 2003. O controle biológico de enfermidades de plantas incitadas por bactérias. **Revisão anual de patologia de plantas**, v.11, 195-228 p.

ROMEIRO, A. R. 2003. Economia ou economia política da sustentabilidade. In: MAY, P. H.; LUSTOSA, M. C.; VINHA, V. **Economia do meio ambiente**. Rio de Janeiro: Elsevier: 1-29 p.

ROMEIRO, R. da S.. 2005 **Bactérias fitopatogênicas**. 2.ed. Viçosa: UFV, 417p.

ROMEIRO, R. da S. 2007a. **Controle biológico de doenças de plantas: fundamentos**. Viçosa: UFV, 269 p.

ROMEIRO, R. da S. 2007b. **Controle biológico de doenças de plantas: procedimentos**. Viçosa: UFV, 172 p.

RONIN, C.; FENOUILLET, E.; HOVSEPIAN, S.; FAYET, G.; FOURNET, B. 1986.

Regulation of thyroglobulin glycosylation. A comparative study of the thyroglobulins from porcine thyroid glands and follicles in serum-free culture. **J Biol Chem** 261:7287– 7293 p.

SALLES, J.F.; GITAHY, P.M.; SKOT, L.; BALDANI, J.I. 2000. Use of endophytic diazotrophic bacteria as a vector to express the cryA gene from *Bacillus thuringiensis*. **Brazilian Journal of Microbiology**, 31:155-161 p.

SAMUELS, G.J. 2004. *Trichoderma ovalisporum*: A new endophytic species with potential to control frosty pod rot of cocoa; **Mycol. Prog**.

SCHMIDT, C., VELLEMAN, M., ARBER, W. 1996. Three functions of bacteriophage P1 involved in cell lysis. **J Bacteriol** 178, 1099–1104 p.

SCHNABEL, E. L., JONES, A. L. 2001. Isolation and characterization of five *Erwinia amylovora* bacteriophages and assessment of phage resistance in strains of *Erwinia amylovora*. **Appl Environ Microbiol** 67, 59–64 p.

SCHROTH, M.N., BECKER, J.O. 1990. Concepts of ecological and physiological activities of rhizobacteria related to biologic control and plant growth promotion. In: HORNBY, D. (Ed.). **Biological control of soil-borne plant pathogens**. Wallingford: C.A.B. Internacional, 389-414 p.

SEDIYAMA, C. S. 2010. Características agrônomicas de cultivares de mamona em função do local de cultivo e da época de semeadura no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.40, n.3, Santa Maria. 501-506 p.

SILVA, J. M. C; SOUZA, M. A.; BIEBER, A. G. D., CARLOS, C. J. 2003. Aves da Caatinga: status, uso do habitat e sensibilidade. In: Ecologia e Conservação da Caatinga. Organizado por Tabarelli, M.; Inara R. Leal & Silva, JMC. Recife: Editora Universitária.

SILVA HHG, SILVA IG, SANTOS RMG, FILHO ER, ELIAS CN. 2004. Atividade larvicida de taninos isolados de *Magonia pubescens* St. Hil. (Sapindaceae) sobre *Aedes aegypti* (Diptera, Culicidae). **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 37: 396-399 p.

SMIDT, M., VIDAVER, A.K. 1986. Population dynamics of *Clavibacter michiganense*



- subsp. *nebraskense* in field-grown dent corn and popcorn. *Plant Dis.* 70:1031-1036 p.
- SMITH, A. W. S., JACKSON, L. A. A. 1990. An Application of Coastal Management Tactics Gold Coast, Queensland, Australia. **Shore & Beach**, 58(3): 3-8 p.
- SIMMONDS, S., COID, J., JOSEPH, P. 2001. Community mental health team management in severe mental illness: a systematic review. **British Journal of Psychiatry**, 178, 497 -502 p.
- SOUZA, A.Q.L.; SOUZA, A.D.L.; ASTOLFI FILHO, S.; PINHEIRO, M.L.B.; SARQUIS, M.I.M.; PEREIRA, J.O. 2004. Atividade Antimicrobiana de Fungos Isolados de Plantas Tóxicas da Amazônia: *Palicourea Longiflora* (Aubl.) Rich e *Strychnos Cogens* Bethan; **Acta Amazônica** 34(2): 185 -195 p.
- SOUZA, A.Q.L. 2006. Potencial Genético e Químico dos endófitos de *Murray paniculata* L. (Jack). **Tese de doutorado**, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP, Brasil, 128 p.
- STANIER, R. Y., INGRAHAM, J. L., WHEELIS, M. L., PAINTER, P. R. 1986. **The Microbial World**. 5 ed., Prentice Hall, New Jersey. 689 p.
- STROBEL, G.; YANG, X.; SEARS, J.; KRAMER, R.; SIDHU, R.S.; HESS, W.M. 1996. Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an endophytic fungus of *Taxus wallachiana*. **Microbiology** 142, 435 p.
- STROBEL, G.A. 2002. Microbial gifts from rain forests; *Can J Plant Pathol.* 24:14-20 p.
- STROBEL, G.; DAISY, B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products; *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67: 491-502 p.
- SPARG, S.G., JAGER, A.K., VAN STADEN, J. 2000. Efficiency of traditionally used South African plants against Bilharzia. **Journal of Ethnopharmacology**. V.73. 209-214 p.
- SUTTON, J.C., PENG, G. 1993. Biocontrol of *Botrytis cinerea* in strawberry leaves. **Phytopathology** 83, 615-621 p.
- SUTTON, J.C., LI, D.W., PENG, G., YU, H., ZHANG, P. 1997. *Gliocladium roseum*: a versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops. **Plant Disease** 81, 316-328 p.
- VIDAVER, A. K. 1983. Bacteriocins: the lure and the reality. **Plant Disease**, St. Paul, v. 67, n. 5, 471-475 p.
- WELLER, D.M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. **Annual Review of Phytopathology** 26, 379-407 p.
- WRIGHT, S.F., UPADHYAYA, A., 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. **Soil Science** 161, 575-586 p.
- WHIPPS, J.M. 2001. Roots and their environment: microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. **Journal of Experimental Botany**, v.52, 487-511p.
- WHIPPS, J.M.1990. **Carbon economy**. In: Lynch JM, ed. The rhizosphere. Chichester: Wiley, 59-97 p.
- WHIPPS, J.M., GREWAL, S.K., VAN DER GOES, P.1991. Interactions between *Coniothyrium minitans* and *sclerotia*. **Mycological Research** 95, 295-299 p.
- YI, Y. K., SON, J. S. 1993. Biological control effect of treating avirulent bacteriocin-producing strain of *Pseudomonas solanacearum* adapted to low temperature on tobacco bacterial wilt. **Journal of the Korean Society of Tobacco Science**, 15: 26-33 p.
- YIN, S. Y.; KENG, D. C.; YANG, K. Y.; CHEU, D. 1957. A further study on the biological control of verticillium wilt of cotton. **Acta Phytopathol. Sin.** 3:55-61 p.
- YIN, S. Y.; CHANG, J. K.; XUN, P. C. 1965. Studies in mechanisms of antagonistic fertilizer "5406." IV. The distribution of the antagonist in soil and its influence on the rhizosphere. **Acta Microbiol. Sin.** 11:259-288 p.
- ZHANG, H. W.; SONG, Y. C.; TAN, R. X. 2006. Biology and chemistry of endophytes. **Nat Prod Rep** 23, 753-771 p.



ZINSER, E.R., KOLTER, R. 2004. Escherichia coli Evolution During Stationary Phase. **Res. Microbiol.** 155: 328-336 p.

ZUCHI, J; BEVILAQUA, G. A. P.; ZANUNCIO, J. C.; PESKE, S. T.; SILVA, S. D. A.;

SEDIYAMA, C. S. 2010. Características agrônômicas de cultivares de mamona em função do local de cultivo e da época de semeadura no Rio Grande do Sul. **Ciência Rural**, v.40, n.3, 501-506 p.