



SAMANDA LÓPEZ PEÑA

TRATAMENTO DE SEMENTES COM *Bacillus subtilis* BIOUFLA2 EM GENÓTIPOS DE MILHO EM RELAÇÃO À COLONIZAÇÃO DE RAÍZES E INFECÇÃO POR *Fusarium verticillioides*

LAVRAS – MG

2021

SAMANDA LÓPEZ PEÑA

TRATAMENTO DE SEMENTES COM *Bacillus subtilis* BIOUFLA2 EM GENÓTIPOS DE MILHO EM RELAÇÃO À COLONIZAÇÃO DE RAÍZES E INFECÇÃO POR *Fusarium verticillioides*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Dr. Welison Andrade Pereira
Orientador

Dr. João Cândido de Souza
Co-orientador

**LAVRAS-MG
2021**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

Peña, Samanda López.

Tratamento de sementes com *Bacillus subtilis* BIOUFLA2 em genótipos de milho em relação à colonização de raízes e infecção por *Fusarium verticillioides* / Samanda López Peña. - 2021.

70 p. : il.

Orientador(a): Welison Andrade Pereira.

Coorientador: João Cândido de Souza.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Zea mays. 2. Indução de resistência. 3. Promoção de crescimento. I. Pereira, Welison Andrade. II. João Cândido. IV. Título.

SAMANDA LÓPEZ PEÑA

TRATAMENTO DE SEMENTES COM *Bacillus subtilis* BIOUFLA2 EM GENÓTIPOS DE MILHO EM RELAÇÃO À COLONIZAÇÃO DE RAÍZES E INFECÇÃO POR *Fusarium verticillioides*

SEED TREATMENT WITH *Bacillus subtilis* BIOUFLA2 IN MAIZE GENOTYPES IN RELATION TO ROOT COLONIZATION AND INFECTION BY *Fusarium verticillioides*

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 15 de Janeiro de 2021.

Dr. Welison Andrade Pereira - UFLA

Dr. Flavio H. V. Medeiros - UFLA

Dr. Júlio Carlos Pereira Da Silva – UFLA

Dr. Carlos Guentner- University of Göttingen

Dr. Welison Andrade Pereira
Orientador

Dr. João Cândido de Souza
Co-orientador

**LAVRAS-MG
2021**

À minha família, pelo apoio, carinho e confiança.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

A minha tia Rocio Aleida Peña, que sempre foi como uma mãe para mim, pelas tantas oportunidades que coloca na minha vida e, por ser minha guia e exemplo sempre.

A meus pais, Jorge Eliecer e Maria Stella, pelo amor, apoio os ensinamentos no dia a dia, e principalmente por serem os primeiros que acreditam nos meus sonhos.

A meu irmão, Ian Alexander, por ser muitas vezes exemplo para mim e, por todo o amor que sentimos um pelo outro.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Biologia e de Fitopatologia, instituição de prestígio a nível nacional e internacional, pela oportunidade concedida para realização do mestrado.

À CNPq, o presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – Brasil.

Ao professor Welison Andrade Pereira pela orientação e ensinamentos, por ser um exemplo de compromisso e amor ao trabalho.

Ao professor Flávio Henrique Vasconcelos de Medeiros e João Cândido de Souza pela orientação, os ensinamentos, guias e por ter sido um grande apoio para mim.

Aos grupos do Laboratório de Controle Biológico em Fitopatologia e Genética Molecular, e em especial a Rafaela Araújo Guimarães pelo suporte e ensino durante os meses de trabalho em conjunto.

As pessoas que conheci durante esta etapa e que se tornaram importantes para mim, em especial, Valter, Luisa, Amanda e Eric.

Aos colegas do GEN, pela convivência e apoio durante todo o mestrado.

A TODOS, MUITO OBRIGADA!

RESUMO

O milho está exposto a uma extensa gama de patógenos que prejudicam a qualidade e produtividade de grãos, entre os mais importantes se destaca o fungo *Fusarium verticillioides*. Este patógeno causa a podridão do colmo, espiga e contaminação por micotoxinas, que representam grande risco para a saúde de animais e humanos. Recentemente, uma aplicação em tandem de fungicidas com a cepa de *Bacillus subtilis* BIOUFLA2 foi identificada como uma estratégia promissora para controlar doenças causadas por *F. verticillioides*. Por conseguinte, o biocontrole pode ser uma ferramenta útil no melhoramento da cultura, visando mitigar os danos causados pelos fitopatógenos, assim como a promoção de crescimento nas plantas. Para entender melhor os mecanismos de interação e associação do milho comercial com os microrganismos da rizosfera, foi conduzido um estudo de indução de resistência para identificar o efeito contra *Fusarium verticillioides* e na promoção de crescimento pelo uso da bactéria *Bacillus subtilis*. O experimento foi estabelecido em campo, na Fazenda Experimental Muquem da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Brasil, e em casa de vegetação, no Departamento de Fitopatologia da UFLA, Brasil, em períodos diferentes. Com isso, foi quantificada a capacidade de formação de biofilme na raiz, o comprimento e peso da parte vegetativa e radicular, assim como a indução de resistência e a produtividade. Essas variáveis foram testadas em cinco híbridos simples de milho comercial (DKB390, 2B640, 2B688, BM855 e CD3770), sendo submetidos ao fatorial de tratamento 2 x 2 (*Bacillus subtilis* presente ou ausente, e *F. verticillioides* presente ou ausente). Os resultados indicaram que existe variabilidade entre a formação do biofilme, confirmando a interação genótipo-dependente entre os híbridos trabalhados e *Bacillus subtilis*. Os genótipos DKB390, 2B640 e 2B688 apresentaram maior associação com *B. subtilis*, porém a bactéria atuou como promotor de crescimento unicamente nos híbridos DKB390 e BM855, aumentando a produção em 2B688. Não se acharam evidências de efeitos de biocontrole por *Bacillus subtilis* para o controle de *F. verticillioides* em campo. Por outro lado, se obtiveram melhores resultados no tratamento com *F. verticillioides*, promovendo o crescimento nos híbridos DKB390, 2B6040, 2B688, BM855 e CD3770, em pelo menos uma das variáveis de crescimento aéreo e radicular. Porém, *Fusarium* não mostrou resultados diferenciais na variável de produção. Os efeitos presenciados podem estar relacionados a fatores ambientais que condicionam o comportamento do fungo que conjuntamente cria reações de crescimento na planta. Já os resultados obtidos por *Bacillus* podem ser devidos à interação com outros microrganismos presentes na rizosfera. Mesmo assim, mais pesquisas devem ser feitas a fim de aprofundar no entendimento da natureza dos microrganismos e interação com materiais comerciais sob diversos fatores ambientais.

Palavras-chave: *Zea mays*, Indução de resistência, Promoção de crescimento.

RESUMEN

El maíz está expuesto a una extensa gama de patógenos que perjudican su calidad y productividad, entre los más importantes se destaca el hongo *Fusarium verticillioides*. Este patógeno causa la podredumbre del tallo, espiga y contaminación por micotoxinas, que representa un gran riesgo para la salud de los animales y humanos. Recientemente, una aplicación en tándem de fungicidas con la cepa de *Bacillus subtilis* BIOUFLA2 fue identificada como una estrategia promisoras para controlar *F. verticillioides* y las enfermedades que causa. El control biológico puede ser una herramienta útil en el mejoramiento del cultivo, con el fin de mitigar los daños causados por los fitopatógenos, así como la promoción de crecimiento en las plantas. Para entender mejor los mecanismos de interacción y asociación del maíz comercial con los microorganismos de la rizósfera, se condujo un estudio de inducción de resistencia sistémica para identificar el efecto contra *Fusarium verticillioides* y promoción de crecimiento por el uso de la bacteria *Bacillus subtilis*. El experimento fue establecido una vez en campo, en la Hacienda Experimental Muquem de la Universidad Federal de Lavras (UFLA), Brasil, y dos veces en invernadero, en el Departamento de Fitopatología de la UFLA, en períodos diferentes. Con eso, fue cuantificada la capacidad de formación de biofilm en la raíz, la longitud y peso de la parte vegetal y radicular, así como la inducción de resistencia y la productividad. Esas variables fueron testadas en cinco híbridos simples de maíz comercial (DKB390, 2B640, 2B688, BM855 e CD3770), siendo sometidos al factorial de tratamiento 2 x 2 (*Bacillus subtilis* presente o ausente, y *Fusarium verticillioides* presente o ausente). Los resultados indicaron que existe variabilidad entre la formación del biofilm, confirmando a interacción genotipo-dependiente entre los híbridos trabajados y *Bacillus subtilis*. Los genotipos DKB390, 2B640 e 2B688 presentaron mayor asociación con *B. subtilis*, sin embargo, la bacteria actuó como promotor de crecimiento únicamente en los híbridos DKB390 y BM855, aumentando la producción en 2B688. No se encontraron evidencias de efectos de biocontrol por parte de *B. subtilis* para el control de *Fusarium verticillioides* en campo. Por otro lado, se obtuvieron mejores resultados en el tratamiento con *F. verticillioides*, promoviendo el crecimiento en los híbridos DKB390, 2B6040, 2B688, BM855 e CD3770, en por lo menos una de las variables de crecimiento aéreo e radicular. Sin embargo, *Fusarium* no mostró resultados diferenciales en la variable de producción. Los efectos presenciados pueden estar relacionados a factores ambientales que condicionan el comportamiento del hongo que conjuntamente crea reacciones de crecimiento en la planta. Ya en cuanto a los resultados obtenidos por *Bacillus* pueden deberse a la interacción con otros microorganismos presentes en la rizósfera. Aun así, más investigaciones deben ser realizadas con la finalidad de profundizar en la comprensión de la naturaliza de los microorganismos e interacción con los materiales comerciales bajo diversos factores ambientales.

Palabras clave: *Zea mays*. Inducción de Resistencia. Promoción de crecimiento.

ABSTRACT

Corn is exposed to an extensive range of pathogens that impair its quality and productivity, among which the most important is the fungus *Fusarium verticillioides*. This pathogen causes stem rot, ear and contamination by mycotoxins, which represent a great risk to the health of the animals and humans that consume them. Biocontrol can be a useful tool in crop improvement, aiming to mitigate the damage caused by plant-pathogens, as well as promoting growth in plants. To better understand the mechanisms of interaction and association between commercial corn and rhizosphere microorganisms, a systemic induction study was conducted to identify the effect against *Fusarium verticillioides* and growth promotion by using the *Bacillus subtilis*. The experiment was established once in the field, at the Muquem Experimental Farm of the Federal University of Lavras (UFLA), Brazil, and twice in a greenhouse, in the Phytopathology Department of the Federal University of Lavras (UFLA), Brazil, at different periods. With this, the capacity of biofilm formation in the root, the length and weight of the vegetative and root part, as well as the biological control and productivity were quantified. These variables were tested in five simple hybrids of commercial corn (DKB390, 2B640, 2B688, BM855 and CD3770), being submitted to the treatment factorial 2 x 2 (*Bacillus subtilis* present or absent, and *Fusarium verticillioides* present or absent). The results indicated that there is variability between the formation of the biofilm, confirming the genotype-dependent interaction between the worked hybrids and *Bacillus subtilis*. The genotypes DKB390, 2B640 and 2B688 showed greater association with *Bacillus subtilis*, however the bacteria acted as a growth promoter only in the hybrids DKB390 and BM855, increasing production in 2B688. No evidence of antifungal effects by *Bacillus subtilis* was found for the control of *Fusarium verticillioides* in the field. On the other hand, better results were obtained in the treatment with *Fusarium verticillioides*, promoting growth in hybrids DKB390, 2B6040, 2B688, BM855 and CD3770, in at least one of the variables of aerial and root growth. However, *Fusarium* did not show differential results in the production variable. The effects seen may be related to environmental factors that condition the behavior of the fungus that together creates growth reactions in the plant. The results obtained by *Bacillus*, on the other hand, may be due to the interaction with other microorganisms present in the rhizosphere. Even so, more research must be done in order to deepen the understanding of the nature of microorganisms and interaction with commercial materials under different environmental factors.

Keywords: *Zea mays*. Resistance induction. Growth promotion.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Características morfológicas de *Fusarium verticillioides* **a)** em BDA, **b)** microconídios em cadeias e aglomerados, e **c)** microconídios formados a partir de monofialídeos3
- FIGURA 2 - Ciclo de vida e vias de infecção de *Fusarium verticillioides* no agroecossistema de cultivo de milho.....4
- FIGURA 3 - Infecção em grão por cepas de *Fusarium verticillioides*. **a)** Semente de milho saudável; **b)** semente infectada por *Fusarium verticillioides*; **c)** mudas de 5 dias infectadas com *F. verticillioides*; **d)** raízes afetadas pela infecção.....5
- FIGURA 4 - Mecanismos diretos e indiretos da estimulação do crescimento vegetal e controle biológico da bacteria *Bacillus subtilis*, **a)** lipopeptídeos, **b)** sideróforos, **c)** enzimas líticas, **d)** endotoxinas, **e)** indução sistêmica ISR.....9
- FIGURA 5 - Biofilme formado por colônias de *Bacillus subtilis* em raiz de milho10
- FIGURA 6 - Registro térmico da região de Lavras para o mês de novembro de 2019.....12
- FIGURA 7 - Registro térmico da região de Lavras para o mês de fevereiro de 202013
- FIGURA 8 - **a.** Remoção do biofilme com solução salina (0,25%). **b.** Cuba de ultrassom com as raízes para o desprendimento do biofilme. **c.** Método de quantificação por diluição com micro gota, mostrando as primeiras quatro diluições.....15
- FIGURA 9 - **a.** Transplante em copos de plântulas tratadas e não tratadas com *Bacillus subtilis* para o experimento em casa de vegetação. **b.** Semeadura de sementes tratadas e não tratadas com *Bacillus subtilis* para o experimento em campo16
- FIGURA 10 - **a.** Discos do micélio com 5 mm de diâmetro, transferidos para Placas de Petri contendo BDA. **b.** Inoculação por punção no caule de plântulas de duas semanas de crescimento.....17
- FIGURA 11 - Distribuição Inteiramente casualizada das plantas estabelecidas no experimento em casa de vegetação com 5 mm de diâmetro, transferidas para Placas de Petri contendo BDA.....18
- FIGURA 12 - Sorteio dos 10 tratamentos em 4 blocos no campo, seguindo o modelo DBC (Distribuição Blocos Casualizados) e numeração das duas etapas19

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Híbridos simples de milho comercial do Programa de Melhoramento de Milho - UFLA. DBI – UFLA, Lavras, Brasil. 2020	13
TABELA 2 - Classificação de maior a menor número de UFC de <i>Bacillus subtilis</i> por grama de raiz em cada genótipo de milho comercial	21
TABELA 3 - Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos nas diferentes variáveis avaliadas no primeiro experimento em casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia – UFLA, Lavras, Brasil. 2020.....	23
TABELA 4 - Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos nas diferentes variáveis avaliadas no segundo experimento em casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia – UFLA, Lavras, Brasil. 2020.....	25
TABELA 5 - Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos na variável densidade da raiz avaliada no segundo experimento em casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia – UFLA, Lavras, Brasil. 2020	26
TABELA 6 - Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos na variável densidade da parte aérea avaliadas no segundo experimento em casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia – UFLA, Lavras, Brasil. 2020.....	27
TABELA 7 - Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos nas diferentes variáveis avaliadas considerando os dois experimentos em casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia – UFLA, Lavras, Brasil. 2020.....	28
TABELA 8 - Média das amostras sadias e sintomáticas para podridão de colmo dos híbridos simples de milho comercial em relação aos tratamentos no experimento em campo na Fazenda Experimental Muquem da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Brasil. 2020.....	30
TABELA 9 - Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos nas variáveis número de grãos e peso de grãos para produtividade no experimento em campo na Fazenda Experimental Muquem da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Brasil. 2020.....	31
TABELA 10 - Correlação entre os diferentes patógenos achados nas amostras colhidas em campo.....	32

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO	2
2.1 Cultura do milho (<i>Zea mays L.</i>).....	2
2.3 <i>Fusarium verticillioides</i> como patógeno do milho	2
2.3.1 Epidemiologia e etiologia.....	3
2.4 Controle biológico de fitopatógenos.....	5
2.4.1 <i>Bacillus subtilis</i>	6
2.4.2 Mecanismos de ação.....	7
2.5 Resposta sistemática induzida	8
2.6 BIOUFLA2.....	9
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3.1 Local	11
3.2 Material vegetal	12
3.3 Material biológico	13
3.4 Condução e avaliação do experimento.....	13
3.4.1 Quantificação do biofilme	13
3.4.2 Tratamento de sementes com <i>Bacillus subtilis</i>	14
3.4.3 Inoculação do patógeno <i>Fusarium verticillioides</i>	15
3.4.4 Avaliação do efeito de <i>Bacillus subtilis</i>	16
3.5. Análise estatística.....	19
4 RESULTADOS	20
5 DISCUSSÃO	32
6 CONCLUSÕES.....	36
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37

1 INTRODUÇÃO

Na cultura de milho o rendimento é prejudicado pela infecção fúngica produzida pelo patógeno *Fusarium verticillioides*. O fungo apresenta ampla diversidade de efeitos sobre o hospedeiro, variando desde plantas assintomáticas até plantas com podridão no caule, raiz ou espiga, chegando a perdas totais, caso não se adeque o tratamento (DE LA TORRE, et al., 2014). Adicionalmente, caracteriza-se por produzir vários tipos de micotoxinas, entre as quais desta-se as fumonisinas, substâncias de grande interesse, uma vez que diferentes estudos demonstraram a existência de atividade carcinogênica em humanos (IARC, 2002; BORDIN K, et al., 2014), leucoencefalomalácia equina (ELEM) (ROSS, PF. et al., 1992), e edema pulmonar suíno (DESJARDINS, AE, et al., 1998). Aspectos alarmantes para quem manipula e consome este cereal, sendo de vital importância o controle do referido patógeno.

Por esse motivo é necessário o desenvolvimento de novas estratégias que se ajustem aos atuais sistemas de produção e demandas do mercado. Dentre as alternativas estudadas para o manejo de *F. verticillioides*, vale destacar o biocontrole feito pela bactéria *Bacillus subtilis*. Sua eficiência para a proteção do ataque de diversos patógenos e promoção de crescimento já foi demonstrada (ZHU, J., et al., 2020). A capacidade de formação de endósporos, o amplo espectro dos antibióticos, e à produção variável de moléculas eliciadoras que induzem resposta sistêmica na planta, são características que demonstram a eficiência da bactéria (MEDINA et al., 2017).

Neste trabalho foram utilizadas as cepas de BIOUFLA2, sendo demonstrado que permitem a ativação de mecanismos de defesa na planta por antagonismo-bioestimulação contra o patógeno (GUIMARÃES, R., et al., 2016). Assim mesmo, a bactéria consegue promover o crescimento, regulando-o por meio da produção de fitormônios e enzimas. Também promove a mineralização de nutrientes, fixação de nitrogênio e incremento da capacidade de absorção das raízes, sendo particularmente destacável a produção de fitormônios e sideróforos produzidos pela bactéria em comparação a cepas de outras espécies (WANG et al., 2018).

Neste contexto, esta pesquisa visa avaliar o efeito de *Bacillus subtilis* em associação com a planta de milho, medindo a eficiência no controle de *Fusarium verticillioides* ao analisar a relação na interação planta-patógeno. Concomitantemente, avaliar o efeito do tratamento como promotor de crescimento nos híbridos de milho comercial.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cultura do milho (*Zea mays L.*)

O milho é uma das culturas mais importantes do mundo devido à grande produção, extensão e ampla aplicação na alimentação humana e animal, assim como na indústria de alta tecnologia (FAO, 2019). O milho também está entre os três cereais mais exportados por se adaptar facilmente a diferentes condições ambientais, gerar renda por meio da produção de grãos, e ser matéria-prima para uma grande quantidade de produtos industriais e biocombustíveis (MARTINEZ & FERNANDEZ, 2019; GARCÍA-LARA & SERNA-SALDIVAR, 2019).

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho, sendo o segundo grão mais produzido no país, superado apenas pela soja, fazendo com que a cadeia produtiva deste cereal tenha elevada importância no agronegócio nacional. Neste âmbito, a cultura encontra-se amplamente disseminada, tendo multiplicidade de usos na propriedade rural, contando com uma área cultivada de 15,12 milhões de hectares e produzindo 82 milhões de toneladas. Portanto, é hoje uma cultura estratégica para o país, ao ser o terceiro maior exportador mundial deste produto (FAO, 2020).

Segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento do Brasil (BRASIL, 2011; CONAB, 2020), para suprir a demanda, a produção de milho no Brasil está projetada para crescer 2% ao ano até o ano 2021, com o aumento da área plantada em 0,3% ao ano no mesmo período. Este aumento de produtividade de 2% ao ano intensifica a demanda por um melhor rendimento do cultivo e conseqüentemente uma maior qualidade do grão. Para isso, é necessário o estabelecimento da cultura visando proporcionar condições ideais, que incluem temperaturas entre 25-30°C, regos de pelo menos de 5mm por dia, e uma nutrição rica em P, K e N, assim como minimizar a incidência de fitopatógenos que afetam a produção e qualidade do produto final (MCNEIL & MONTROSS, 2019).

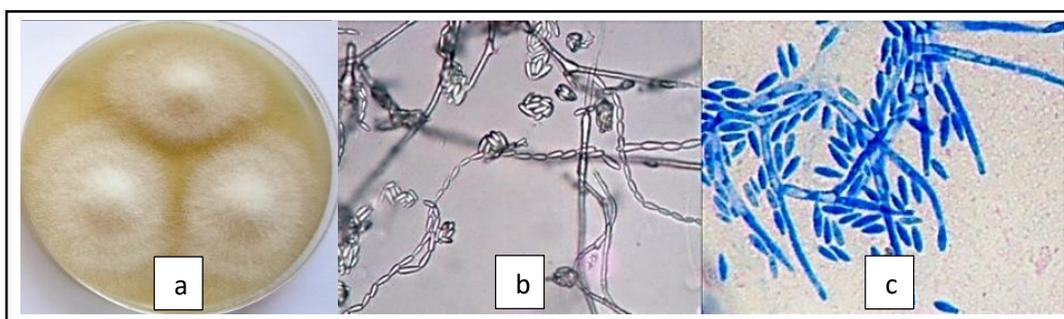
2.3 *Fusarium verticillioides* como patógeno do milho

O milho em ambientes tropicais é atacado por um grande número de patógenos que causam danos econômicos significativos. Em 2013 foi realizado um levantamento exploratório por Stumpf, R. e colaboradores nas regiões produtoras de milho no estado do Rio grande do Sul, Brasil. Os

resultados demonstraram que o fungo *Fusarium verticillioides* foi a espécie dominante (76%) dos isolados obtidos. Este patógeno causa a podridão rosada da espiga e grãos, além da podridão em raiz e colmo, que prejudica significativamente a produtividade do milho na grande maioria dos plantios em todo o mundo (BUTRÓN et al., 2015).

As interações biológicas entre a planta do milho e *F. verticillioides* são complexas. A colonização do fungo pode acontecer de forma sintomática e assintomática, não sendo confirmadas as razões que causam esta variação (FREIRE E SANT'ANA, 2018).

Figura 1. Características morfológicas de *Fusarium verticillioides* a) em BDA, b) microconídios em cadeias e aglomerados, e c) microconídios formados a partir de monofialídeos.



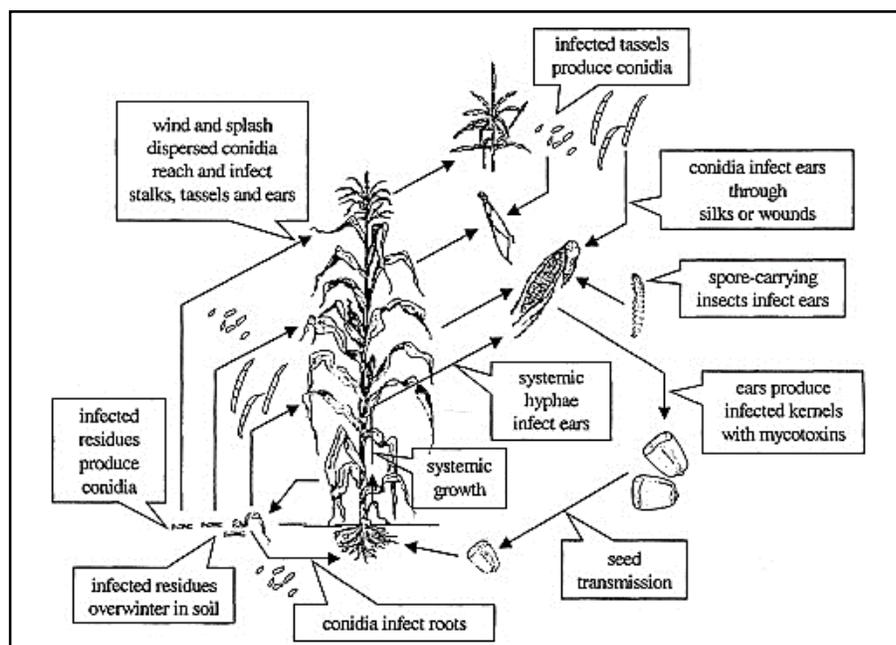
Fonte: (PASCUAL et al., 2016)

Entre as principais variáveis ambientais que determinam a extensão da invasão do patógeno estão a disponibilidade de água e temperatura elevadas, sendo aspectos fundamentais no desenvolvimento do fungo. Diversos autores determinaram que a temperatura ideal para o surgimento da doença pode variar entre 25 e 30°C. Enquanto a esporulação é favorecida pela temperatura e luminosidade, com faixa ideal entre 20 e 25 ° C e 12 horas claro / escuro, respectivamente, por estas características, de presença mais comum em regiões com clima quente e seco (VELLUTI et al., 2000; BERND, 2010; SANTIAGO, 2015).

2.3.1 Epidemiologia e etiologia

A infecção causada por *F. verticillioides* pode utilizar três vias de entrada na planta (Figura1): crescimento sistêmico por colonização de sementes, raízes, caule ou folha; infecção transmitida pelo ar ou por respingos de chuva, por macroconídios e microconídios produzidos em resíduos de colheita que colonizam através das sedas ou feridas causadas por insetos; e insetos como vetores de conídios. Dentre essas vias, o crescimento sistêmico a partir de sementes contaminadas consegue contaminar diferentes tecidos, causando danos ao longo do ciclo de vida da cultura (WILKE et al., 2007; PORTES-RAMOS, et al., 2014).

Figura 2. Ciclo de vida e vias de infecção de *Fusarium verticillioides* no agroecossistema de cultivo de milho.



FONTE: (BATTILANI et al., 2003)

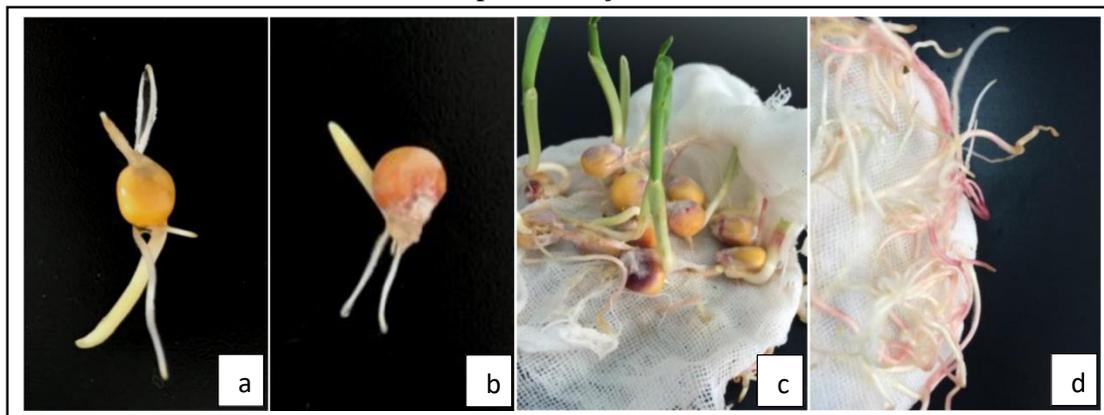
A infecção sistêmica ocorre durante a germinação da semente, quando o fungo penetra diretamente no pericarpo e células da epiderme da raiz após três dias da inoculação. Dependendo da quantidade de inóculo e fatores ambientais, as raízes e o mesocótilo são colonizados e podem apresentar sintomas de apodrecimento após 25 e 30 dias. No caule, não há muitas hifas e, portanto, a infecção pode ocorrer de forma assintomática em alguns tecidos (TINOCO, 2010; HERNÁNDEZ M., et al., 2014).

Quanto à infecção em grão através do estigma, acontece quando o inóculo e os conídios transportados pela água da chuva ou pelo ar são depositados no estigma, facilitando o acesso às células do pericarpo. Em seguida, a hifa fúngica cresce na superfície da cutícula para acessar ao grão, através da parte inferior do canal, mesmo na ausência de lesões mecânicas. Após a invasão, geralmente, apenas uma pequena porcentagem dos grãos infectados se torna sintomática (YATES et al., 2005; HERNÁNDEZ M., et al., 2014).

Mesmo que os grãos sejam colonizados pelo patógeno, várias pesquisas demonstraram que esse fungo não afeta a germinação das sementes. No entanto, dificulta o correto desenvolvimento ao causar deterioração após o surgimento das primeiras estruturas vegetativas, afetando o

crescimento radicular da plântula (Figura 2) (MORAES et al., 2003, CAPPELINI et al., 2005; HERNÁNDEZ M., et al., 2014).

Figura 3. Infecção em grão por cepas de *Fusarium verticillioides*. **a)** Semente de milho saudável; **b)** semente infectada por *Fusarium verticillioides*; **c)** mudas de 5 dias infectadas com *F. verticillioides*; **d)** raízes afetadas pela infecção.



Fonte: (GAI X, et al., 2018).

Além da sua capacidade destrutiva, *Fusarium verticillioides* ganha importância ao ter potencial toxicogênico, conseguindo produzir diversos tipos de micotoxinas. Mais de 28 compostos análogos foram identificados como fumonisinas (DOMIJAN, A.M., 2012). Esses compostos têm sido encontrados em altas porcentagens nas culturas destinadas à alimentação, sendo as fumonisinas as mais prevalentes em alimentos feitos com milho (DEEPA, 2016).

As fumonisinas fazem parte do grupo de micotoxinas de controle fundamental, já que se demonstrou em diversos estudos que a ocorrência deste composto consegue causar leucoencefalomalácia em equinos (ROSS, PF. et al., 1992), edema pulmonar em suínos (DESJARDINS, AE, et al., 1998), e câncer hepático em roedores (DESJARDINS, AE, 2006). Além disso, estão estreitamente associados com a ocorrência de câncer de esôfago e defeitos do tubo neural em humanos (IARC, 2002; AFSSA, 2009; REDDY & SALLEH, 2011; ALBORCH et al., 2012; BORDIN K, et al., 2014).

2.4 Controle biológico de fitopatógenos

No desenvolvimento da produção de alimentos livres de resíduos agroquímicos, aumentou-se a busca de alternativas para o controle de pragas e doenças. O uso de microrganismos ou seus metabólitos para o controle de patógenos na agricultura tem sido amplamente estudado e

desenvolvido para reduzir os efeitos sobre as plantas. Desta forma, o potencial do ambiente natural aplicado à agricultura tem tido um impacto positivo para a produção das culturas (SERRANO E GALINDO, 2007; SOUZA et al. 2015).

O controle biológico, com utilização de microrganismos antagonistas à fitopatógenos, tem sido bastante promissor em função da sua eficácia, acessibilidade econômica e ausência de efeitos adversos à natureza, ao homem e animais (FARACE et al., 2015; PARK et al., 2016; WU et al., 2018).

Os microrganismos mais utilizados no controle biológico de doenças pertencem aos gêneros *Streptomyces*, *Coniothyrium*, *Candida*, *Gliocladium*, *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Trichoderma* e *Bacillus* (AHEMAD & KIBRET 2014). Este último vem sendo amplamente aplicado nos agrossistemas, em função de sua ação antimicrobiana, assim como a associação com a planta hospedeira. Por conseguinte, as cepas deste gênero são amplamente utilizadas no setor agrícola como método de controle de doenças, assim como indução de crescimento das plantas tratadas (LAYTON et al., 2011; WU et al., 2018).

2.4.1 *Bacillus subtilis*

O gênero *Bacillus* pertence ao reino Monera, Filo Firmicutes, classe Bacilli, ordem Bacillales e família Bacillaceae (MAUGHAN E VAN DER AUWERA, 2011). São bactérias gram positivas de rápido crescimento, aeróbias obrigatórias ou facultativas, com capacidade de formação de endósporos, uma estrutura dormente e extremadamente resistente aos fatores físico-químicos. Estas estruturas conferem grande adaptabilidade a condições ambientais adversas, principalmente às variações de temperatura, pH e atividade de água (TEJERA-HERNÁNDEZ et al., 2011). Os endósporos podem permanecer viáveis no meio ambiente até que as condições estejam favoráveis para iniciar os seus processos metabólicos (ERRIGTON, 2003). Por conseguinte, a ótima formação de endósporos como estruturas de resistência desempenha um papel determinante no desenvolvimento, colonização e função da bactéria, estimulando sua associação com a planta hospedeira (TEJERA-HERNÁNDEZ et al., 2011).

Uma das espécies mais estudadas do gênero é *Bacillus subtilis*, com 4 a 5% de seu genoma dedicado à síntese de antibióticos, tendo o potencial de produzir mais de duas dúzias de compostos antimicrobianos estruturalmente diversos (STEIN, 2005; FAN, 2017). Essa diversidade metabólica está associada à promoção de crescimento nas plantas e ação antimicrobiana. Também é relatada a interação com a planta que permite a melhor captação de nutrientes na rizosfera, ajudando no

positivo desenvolvimento da planta, que junto com a capacidade de sobrevivência, que lhe confere habilidade competitiva, se converte em um potencial agente de biocontrole (JAYAKUMAR et al., 2020).

2.4.2 Mecanismos de ação

A bactéria apresenta múltiplos mecanismos de ação associados à interação com a planta hospedeira, ao patógeno e ao ambiente, sendo aspectos decisivos no controle biológico. Os estudos sobre a capacidade antagônica de *Bacillus* contra diversos fitopatógenos, foram iniciados pela descoberta da atividade inseticida das proteínas Cry produzidas por *B. thuringiensis*. Consequentemente, diversas espécies do gênero *Bacillus*, entre elas *B. subtilis*, são amplamente estudadas como bioestimulante e controladores de doenças de importância agrônômica (ERRIGTON, 2003; STADNIK et al., 2018).

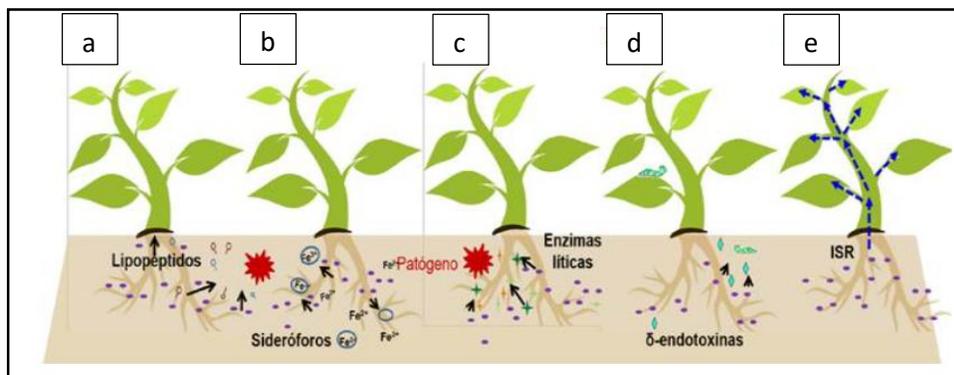
Entre as principais formas em que essas cepas impedem o estabelecimento e desenvolvimento de organismos fitopatogênicos, se acham os mecanismos de excreção de antibióticos. Entre esses mecanismos estão os lipopeptídeos cíclicos não-ribossômicos, sendo os mais estudados, induzindo resistência sistêmica na planta (IRS) (LAYTON et al., 2011; TEJERA-HERNANDEZ et al., 2011).

Os compostos das famílias dos iturins, fengicinas e surfactinas presentes em *B. subtilis*, fizeram parte de diferentes pesquisas quanto à sua atividade antibacteriana e antifúngica (MEENA E KANWAR, 2015; FAN, 2017). A atividade antimicrobiana ocorre pela interação com a membrana citoplasmática de células bacterianas ou fúngicas, que degradam a parede da célula por hidrólise, inibindo assim o crescimento de microrganismos fitopatogênicos, causando a formação de poros e um desequilíbrio osmótico, que desencadeia a morte celular (GONG et al., 2006; FAN, 2017).

Além dos mecanismos associados à ação antimicrobiana, a bactéria tem a faculdade de promover o crescimento das plantas por meio de mecanismos diretos e indiretos (GLICK, 2012) (Figura 4). Os mecanismos diretos estão relacionados à produção de compostos capazes de estimular o crescimento vegetativo ou mesmo facilitando a disponibilidade e absorção dos nutrientes (SIDDIQUI et al., 2006; GLICK 2012; PRASHAR et al., 2013). Nesse processo podem participar diversos tipos de fitohormônios, como as auxinas ou citocininas, compostos orgânicos voláteis e inclusive a produção de compostos na planta que reforcem a imunidade vegetal como o ácido jasmônico, ácido salicílico e fitoalexinas (AHMAD et al., 2008). Já os mecanismos indiretos

estão enlaçados ao biocontrole que protege da degradação dos solos contaminados. Para esses mecanismos, estão envolvidas a produção de sideróforos, compostos antimicrobianos e resistência sistêmica induzida (SIDDIQUI et al., 2006).

Figura 4. Mecanismos diretos e indiretos da estimulação do crescimento vegetal e controle biológico da bateria *Bacillus subtilis*, **a)** lipopeptídeos, **b)** sideróforos, **c)** enzimas líticas, **d)** endotoxinas, **e)** indução sistêmica ISR.

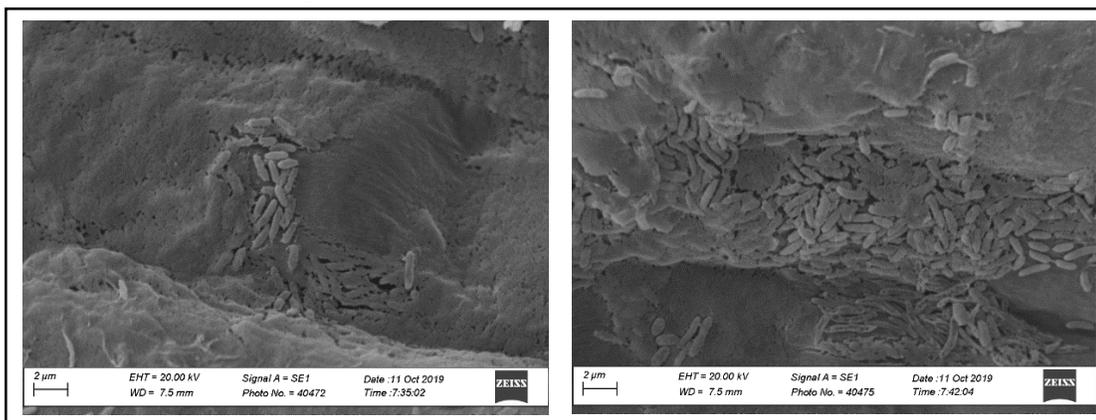


Fonte: (DELGADO, M. et al., 2018).

2.5 Resposta sistemática induzida

O controle eficiente de doenças por agentes biológicos requer que eles sejam capazes de se estabelecerem e interagirem com sua planta hospedeira (PÉREZ-GARCÍA et al., 2011). Assim, além da antibiose, os lipopeptídeos influenciam no estabelecimento de *Bacillus* através da regulação de processos celulares como a formação de biofilmes (CHOUDHARY E JHORI, 2009). O biofilme é formado por colônias de uma ou várias espécies de células microbianas aderidas às superfícies bióticas ou abióticas em contato umas com as outras. Estas células estão encapsuladas em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) autoproduzidas, compostas por exopolisacarídeos e proteína, formando fibrilas porosas que permitem a passagem de nutrientes e saída de resíduos (RAMEY et al., 2004). A formação dos biofilmes envolve quatro etapas: adesão, colonização, maturação e dispersão. As duas primeiras são vitais no estabelecimento e formação da estrutura, dependendo do processo quorum sensing. Este mecanismo está baseado na produção de moléculas sinal (no caso das bactérias gram positivas ao qual pertence *Bacillus subtilis*, são os peptídeos), precisando de uma quantidade certa para ser detectada, estando intimamente ligada à quantidade de células do organismo no meio estabelecido (ANAND et al., 2012).

Figura 5. Biofilme formado por colônias de *Bacillus subtilis* em raiz de milho.



Fonte: Do Autor (2020)

Com a interação planta-microrganismo se ativa uma série de mecanismos que geram resistência sistêmica induzida (ISR), ativado por sinais químicos (eliciadores) gerados pelos microrganismos benéficos (PÉREZ-MONTANO et al., 2014). Graças às cepas, culturas de importância agrícola conseguem se proteger por meio do efeito da resposta sistêmica. Entre os microrganismos mais utilizados na agricultura orgânica para efetuar este processo destaca-se *Bacillus subtilis* (CHOUDHARY e WANG et al., 2014; AKRAM et al., 2016).

B. subtilis produz uma ampla variedade de moléculas eliciadoras que induzem uma resposta sistêmica em plantas, incluindo os lipopeptídeos (CHOWDHURY et al., 2015), fitormônios (RYU et al., 2003), e compostos voláteis (KIM et al., 2015). Esses últimos, ativam os genes PR, que protegem contra a invasão de patógenos. Além desses genes, a bactéria ativa outros mecanismos de proteção nas plantas, que incluem alterações estruturais na parede celular através do acúmulo de lignina (SINGH et al., 2016), ou produção de metabólitos secundários como flavonoides, fitoalexinas, auxinas ou glucosinolatos em geral (PRETALI et al., 2016).

2.6 BIOUFLA2

Bacillus subtilis cepa BIOUFLA2 é oriundo do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, preservado em solução de peptona-glicerol, -20°C. As cepas foram obtidas na triagem de solo e a sua caracterização filogenética foi realizada por análise da sequência do gene 16S rRNA. O DNA genômico foi isolado de uma colônia pura (GUIMARÃES, R.A, et al., 2020).

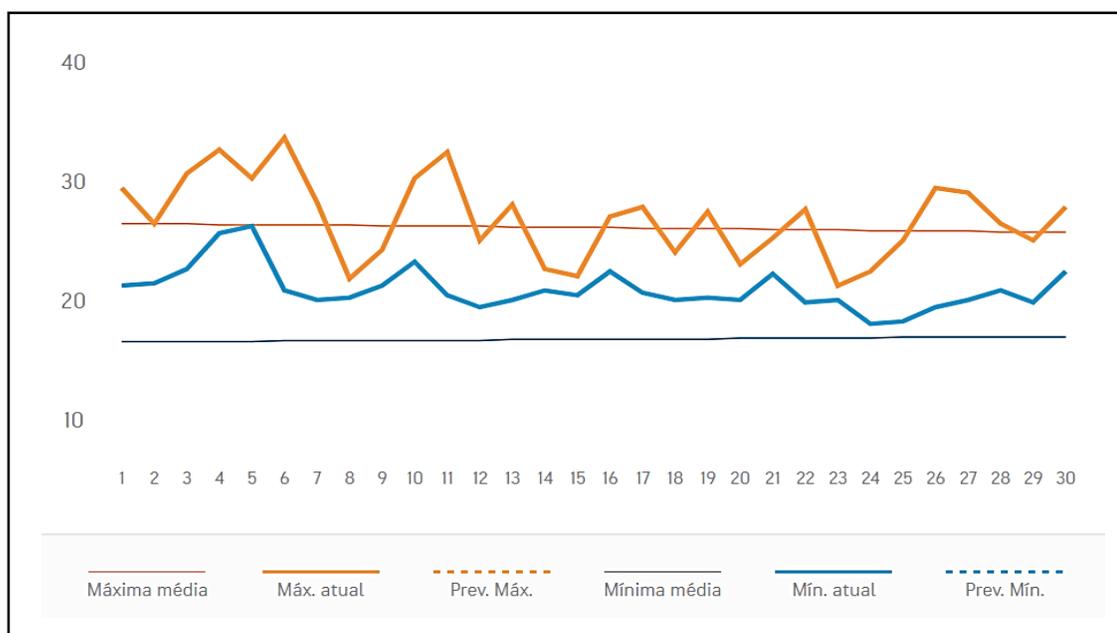
Diversos estudos já foram realizados para testar a eficiência das suas cepas. Recentemente, uma aplicação em tandem de fungicidas com a cepa de *Bacillus subtilis* BIOUFLA2 foi identificada como uma estratégia promissora para controlar doenças causadas por *F. verticillioides* (GUIMARÃES, R.A, et al., 2020). Os testes foram voltados para a aplicação foliar e foi confirmada a redução da colonização de grãos por *F. verticillioides*, mas ainda não foi avaliado o potencial dessa bactéria para o tratamento de sementes.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Local

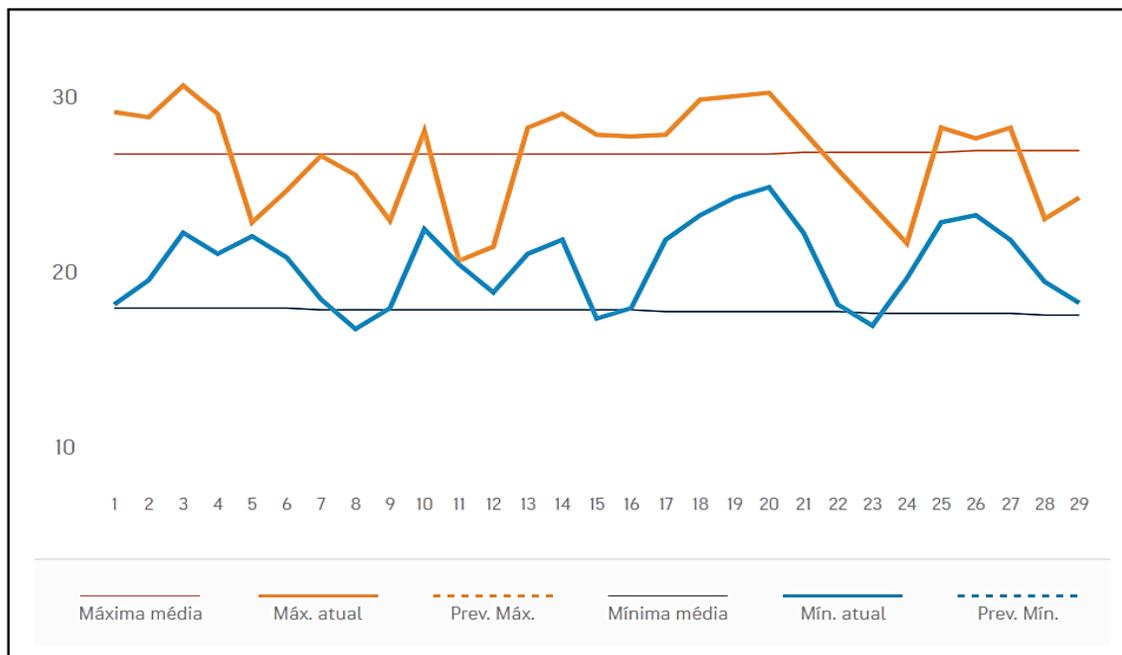
O experimento foi realizado uma vez em campo, no período de novembro de 2019 até abril de 2020, na Fazenda Experimental Muquem da Universidade Federal de Lavras (UFLA), situada a 951 metros de altitude, 21°12' latitude sul e 45°59' de longitude oeste. Em casa de vegetação, o experimento foi realizado duas vezes, em períodos diferentes, sendo o primeiro em novembro de 2019, quando a temperatura oscilou entre 20 e 33 ° C (Figura 6). E o segundo experimento em fevereiro do ano 2020, com temperatura entre 18 e 30 ° C (Figura 7), período que apresentou maiores variações na temperatura. Os dois experimentos foram implantados no Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras - UFLA, localizado em Aqueanta Sol, município de Lavras, Região Sul de Minas Gerais (910 metros de altitude, latitude de 21°14' sul e longitude de 45°00 oeste).

Figura 6. Registro térmico da região de Lavras para o mês de novembro de 2019.



Fonte: AccuWeather

Figura 7. Registro térmico da região de Lavras para o mês de fevereiro de 2020.



3.2 Material vegetal

Para determinar cada fator, foram utilizados cinco híbridos simples de milho comercial (DKB390, 2B640, 2B688, BM855 e CD3770), apresentados na tabela 1.

Tabela 1. Híbridos simples de milho comercial do Programa de Melhoramento de Milho - UFLA. DBI – UFLA, Lavras, Brasil. 2020.

HÍBRIDO	EMPRESA	DESCRIÇÃO
DKB390	DEKALB	Ciclo precoce, com uma altura de planta de 2,30m, tipo de grão semiduro
2B640PW	Dow	Ciclo precoce, grão semiduro, com uma altura da planta de 2,40m
2B688PW	Dow	Ciclo precoce, com estabilidade produtiva, potencial produtivo, qualidade de colmo e qualidade bromatológica da silagem
BM855	Biomatrix	Ciclo precoce, com uma altura de 2,30m
CD3770PW	Dow	Grão semiduro, com uma altura da planta de 2,04m

Fonte: Do Autor (2020).

As sementes foram submetidas ao teste de germinação, mostrando que todos os híbridos apresentaram germinação superior a 92%.

3.3 Material biológico

Foram utilizados dois microrganismos, *Bacillus subtilis* e *Fusarium verticillioides*. Para a indução de resistência e promoção de crescimento, utilizou-se isolado BIOUFLA 2 de *Bacillus subtilis*, oriundo do Laboratório de controle biológico do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras – UFLA. Para as inoculações foi utilizado o patógeno *Fusarium verticillioides* (inóculo da Coleção Micológica de Lavras (CML) F425, obtido da coleção do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras – UFLA).

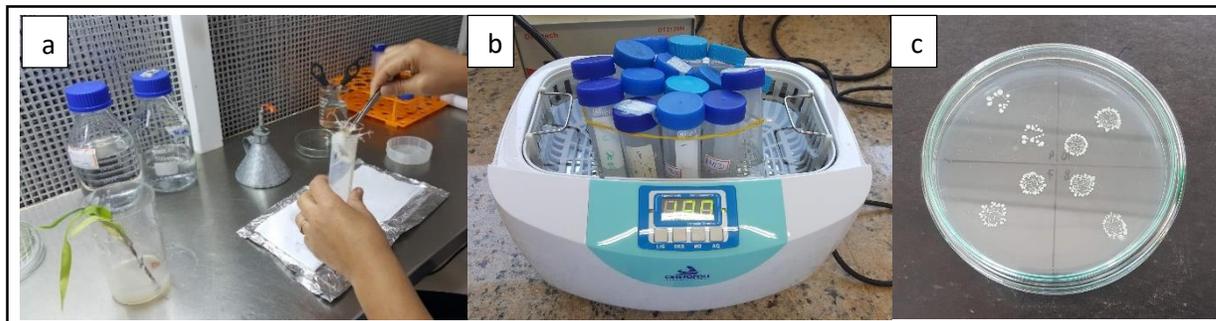
3.4 Condução e avaliação do experimento

3.4.1 Quantificação do biofilme

O bioensaio para avaliar o potencial das cepas de BIOUFLA 2 em criar biofilme com os diferentes híbridos, foi conduzido de forma *in vitro*. Foram implementadas quatro repetições e uma testemunha (sem inóculo) para cada genótipo. Para os tratamentos, foi inoculado 1mL de solução com uma concentração de 1×10^8 UFC/mL de *Bacillus subtilis* (concentração ajustada em espectrofotômetro com OD₅₇₀ nm para absorvância 0,7) nas raízes dos híbridos com uma semana de crescimento em tubos falcon com meio de cultura (15g/L de ágar e água destilada). Na sequência, as amostras foram submetidas a uma temperatura de 25°C, por uma semana em BOD. Transcorrido esse período, as raízes foram separadas das plântulas para a remoção do biofilme, sendo submergidas em 25mL de solução salina 0,25% com agitação constante por 3 minutos. Posteriormente, as parcelas experimentais foram levadas à cuba de ultrassom (sem aquecimento) por 2 minutos a fim de facilitar o desprendimento das células. Logo em seguida, fez-se a secagem das raízes a temperatura ambiente por 15 minutos, sendo finalmente pesadas.

Para a quantificação do biofilme foi seguido método de quantificação por diluição por micro gota (10 µL/gota, 8 diluições, 2 gotas por diluição) em placa dividida (4 divisões/placa), com meio AN (STRAHSBURGER, E., et al., 2016). Após 3 dias em BOD (25°), foram contadas as células formadoras de colônias obtidas na extração do biofilme por grama de raiz crescida em condição axênica, sendo considerada a diluição 10^5 para todas as amostras.

Figura 8. a. Remoção do biofilme com solução salina (0,25%). b. Cuba de ultrassom com as raízes para o desprendimento do biofilme. c. Método de quantificação por diluição com micro gota, mostrando as primeiras quatro diluições.



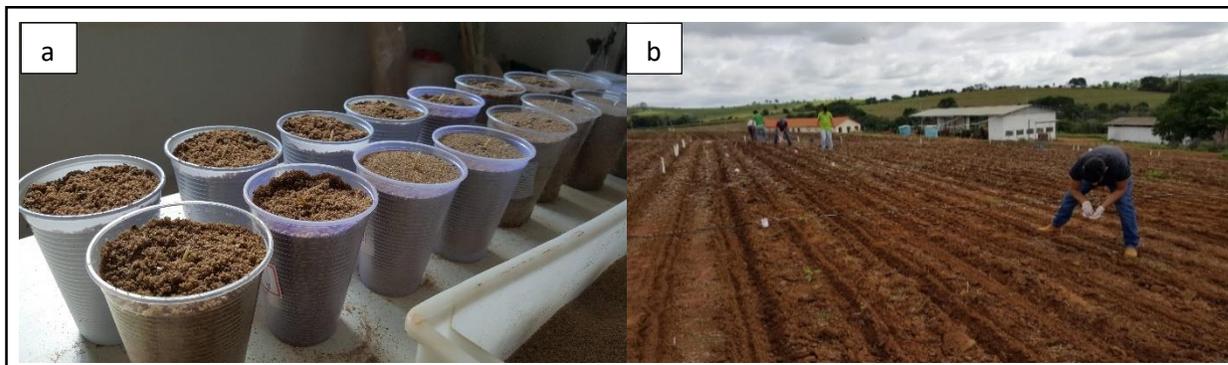
Fonte: Do autor (2020).

3.4.2 Tratamento de sementes com *Bacillus subtilis*

Para o tratamento de sementes, foi necessário reativar a bactéria contida no produto BIOUFLA 2, o qual contém, além do *Bacillus subtilis*, peptona e glicerol para sua conservação. Também foi necessária a desinfecção das sementes, sendo tratadas com uma solução de hipoclorito de sódio comercial (Qboa, indústrias Anhembí, Brasil) a 1% por 2 minutos, em repouso. A solução foi retirada com três lavagens com água destilada estéril (REYES et al., 2008).

Para o experimento em casa de vegetação o tratamento das sementes foi feito após a semeadura, adicionando 1 mL da solução anteriormente descrita, aplicada justo acima da semente, enquanto que para o experimento em campo, o tratamento das sementes foi realizado duas horas prévias à semeadura, sendo aplicados 800 mL da solução por cada 100 kg de semente.

Figura 9. a. Transplante em copos de plântulas tratadas e não tratadas com *Bacillus subtilis* para o experimento em casa de vegetação. b. Semeadura de sementes tratadas e não tratadas com *Bacillus subtilis* para o experimento em campo.



Fonte: Do Autor (2020).

3.4.3 Inoculação do patógeno *Fusarium verticillioides*

Para a utilização do inóculo foi necessária a reativação do fungo contido em meio de cultura malte (EM). Para isso, foram transferidos discos de micélio com 5mm de diâmetro para placas contendo BDA (batata, ágar e dextrose) por duas semanas para produção massal de conídios, sendo incubadas em BOD sob fotoperíodo de 12 horas, a 27 ° C de temperatura. Concluído esse período, foi quantificada a produção de conídios. Para esta avaliação foram adicionados 20 mL de água destilada esterilizada sobre a superfície da colônia, removendo o crescimento fúngico com o auxílio de uma espátula esterilizada. A suspensão obtida foi filtrada através de gaze de camada dupla esterilizada.

A quantificação da concentração de conídios na solução resultante foi calculada com a ajuda da câmara de Neubauer. Para isso, se aplicou uma gota de 20 µL na base da canaleta, considerando a média ponderada entre o número observado nas câmaras superior e inferior, obtendo assim a concentração e volume necessários para a inoculação, utilizando a expressão:

$$C_i \times V_i = C_f \times V_f$$

Onde:

C_i = Concentração inicial (média do número de conídios contados);

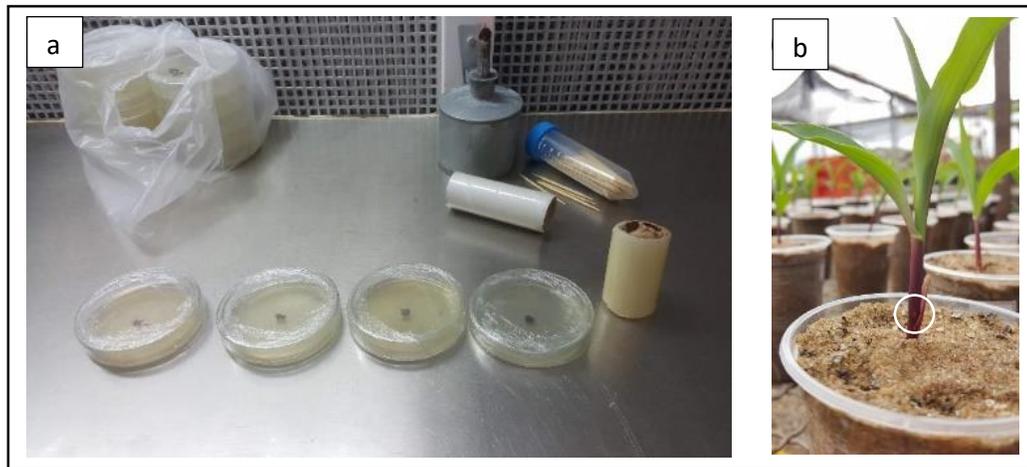
V_i = Volume inicial (volume do inóculo obtido para diluição);

C_f = Concentração Final (concentração do inóculo a ser aplicada);

V_f = Volume final (quantidade de inóculo a ser utilizada);

O processo de inoculação do patógeno nos diferentes híbridos foi realizado da mesma forma na casa de vegetação como em campo, fazendo o processo duas semanas após a germinação, na base do caule, realizando uma punção com um palito de madeira previamente submerso na solução com *Fusarium verticillioides*.

Figura 10. a. Discos do micélio com 5 mm de diâmetro, transferidos para Placas de Petri contendo BDA. b. Inoculação por punção no caule de plântulas de duas semanas de crescimento.



Fonte: Do Autor (2020).

3.4.4 Avaliação do efeito de *Bacillus subtilis*

Para a avaliação do efeito da bactéria, o experimento foi realizado duas vezes em casa de vegetação e uma vez em campo. Em casa de vegetação, o primeiro experimento, foi conduzido em novembro do ano de 2019, e o segundo em fevereiro do ano de 2020. Paralelamente, foi realizado o experimento em campo, com a semeadura em novembro de 2019 e a colheita em abril de 2020, apenas com aplicações de herbicidas.

Os dois experimentos conduzidos em casa de vegetação tiveram como tratamentos a aplicação só de *Bacillus* (CB SF), só de *Fusarium* (SB CF), ambos os microrganismos (CB CF), além da testemunha (SB SF) para cada genótipo. A germinação foi realizada em recipientes Gerbox com areia, mantendo uma umidade constante (25 mL/dia) e temperatura de 25 ° C por um período de cinco dias em câmara de germinação, tempo suficiente para o desenvolvimento da radícula, chegando a 1 cm de comprimento. Após esse período as sementes germinadas foram transferidas para copos de 500 mL de areia, sendo seguidamente adicionado 1 mL da solução previamente descrita de *B. subtilis* sobre cada semente, e 1 mL de água destilada nas testemunhas, finalmente transportados para a casa de vegetação.

Transcorrida uma semana foi feita a infecção por *F. verticillioides* na base do caule e após três semanas foram feitas as medições. Para as avaliações das características em casa de vegetação, o desenvolvimento do caule e da raiz foi analisado com base no seu comprimento (centímetros) e peso de massa seca (gramas). No segundo experimento, acrescentou-se a variável volume da raiz,

para a qual utilizou-se de um tubo de ensaio com água (cm^3), registrando a variação do nível produzida pela raiz.

Figura 11. Distribuição inteiramente casualizada das plantas estabelecidas no experimento em casa de vegetação.



Fonte: Do Autor (2020).

Para os tratamentos do experimento em campo foi feita uma divisão em duas etapas. Primeiramente, analisou-se o comportamento dos híbridos em relação a *Bacillus subtilis*, contrastando as plantas tratadas com as não tratadas. Para isso, o tratamento das sementes foi feito previamente à semeadura, aplicando-se 8 mL de solução a uma concentração de 1×10^8 de UFC por kg de semente a se tratar. Em seguida, foram semeadas diretamente no solo, juntamente com as sementes não tratadas. Para o estabelecimento das plantas em campo seguiu-se o delineamento em blocos casualizados, e o sorteio dos tratamentos foi realizado pelo programa GENES. Tendo um total de dez tratamentos com quatro blocos, cada parcela com quatro linhas de cinco metros de comprimento com uma separação de meio metro entre elas. Após uma semana foram avaliados o comprimento e peso da parte aérea, em que se tomaram quatro plantas de cada parcela dos diferentes blocos.

Figura 12. Sorteio dos 10 tratamentos em 4 blocos no campo, seguindo o modelo DBC (Distribuição Blocos Casualizados) e numeração das duas etapas.

B1	7	5	2	8	1						
	6	4	3	9	10						
B2	10	8	5	6	9						
	3	2	1	7	4						
B3	7	4	9	2	5						
	1	10	8	6	3						
B4	1	9	10	8	3						
	6	7	4	2	5						
Primeira etapa						Segunda etapa					
1	2B640 sem <i>Bacillus subtilis</i> sem <i>Fusarium verticillioides</i>					1	2B640 sem <i>Bacillus subtilis</i> com <i>Fusarium verticillioides</i>				
2	2B688 sem <i>Bacillus subtilis</i> sem <i>Fusarium verticillioides</i>					2	2B688 sem <i>Bacillus subtilis</i> com <i>Fusarium verticillioides</i>				
3	CD3770 sem <i>Bacillus subtilis</i> sem <i>Fusarium verticillioides</i>					3	CD3770 sem <i>Bacillus subtilis</i> com <i>Fusarium verticillioides</i>				
4	BM855 sem <i>Bacillus subtilis</i> sem <i>Fusarium verticillioides</i>					4	BM855 sem <i>Bacillus subtilis</i> com <i>Fusarium verticillioides</i>				
5	DKB390 sem <i>Bacillus subtilis</i> sem <i>Fusarium verticillioides</i>					5	DKB390 sem <i>Bacillus subtilis</i> com <i>Fusarium verticillioides</i>				
6	2B640 com <i>Bacillus subtilis</i> sem <i>Fusarium verticillioides</i>					6	2B640 com <i>Bacillus subtilis</i> com <i>Fusarium verticillioides</i>				
7	2B688 com <i>Bacillus subtilis</i> sem <i>Fusarium verticillioides</i>					7	2B688 com <i>Bacillus subtilis</i> com <i>Fusarium verticillioides</i>				
8	CD3770 com <i>Bacillus subtilis</i> sem <i>Fusarium verticillioides</i>					8	CD3770 com <i>Bacillus subtilis</i> com <i>Fusarium verticillioides</i>				
9	BM855 com <i>Bacillus subtilis</i> sem <i>Fusarium verticillioides</i>					9	BM855 com <i>Bacillus subtilis</i> com <i>Fusarium verticillioides</i>				
10	DKB390 com <i>Bacillus subtilis</i> sem <i>Fusarium verticillioides</i>					10	DKB390 com <i>Bacillus subtilis</i> com <i>Fusarium verticillioides</i>				

Fuente: Do Autor (2020).

Para a segunda etapa do experimento em campo, logo depois de serem colhidos os dados de comprimento e peso da parte aérea das plantas, foram infectadas com *F. verticillioides* o restante das plantas, tendo assim dois tratamentos para cada híbrido, “com *B. subtilis* e com *F. verticillioides* (CB CF)” e “sem *B. subtilis* e com *F. verticillioides* (SB CF)”. Transcorridos quatro meses, com a ajuda da trilhadeira, foi feita a colheita do grão em que paralelamente avaliou-se a podridão de colmo. Para esse processo foram testadas ao acaso 10 plantas por parcela, levando para o laboratório aquelas que apresentavam sintomas, sendo colocadas em câmara úmida para

promover o crescimento de microrganismos na amostra, e assim identificar o patógeno por diferenciação estrutural.

Finalmente, a produtividade foi calculada pelo número e peso dos grãos, sendo que, para o número de grãos trabalhou-se com a média da quantidade de grãos de quatro espigas colhidas das duas linhas centrais de cada parcela. Para o peso dos grãos, foi coletado o resto das espigas das duas linhas centrais de cada parcela, calculando o peso e a umidade, fazendo o ajuste para 13% de umidade como padrão.

3.5. Análise estatística

O processamento dos dados foi executado no programa aplicativo computacional GENES, com o qual se fez a análise de variância fatorial de 2x2, comparação entre medias (Scott e Knott) e correlação.

A análise de variância foi feita seguindo o modelo de blocos ao acaso para o experimento em campo e o modelo inteiramente casualizado para os dois experimentos feitos na casa de vegetação. Essa análise é importante, para que se possa avaliar a existência de variabilidade entre os tratamentos de cada genótipo estudado, e assim mesmo a precisão relativa de cada experimento (Cruz, 2001). A análise de variância fatorial simples 2x2 foi feita considerando os efeitos dos genótipos e o ambiente como aleatório. O modelo empregado foi:

$$m + G_i + A_j + GA_{ij} + E_{ijk}$$

onde:

m: média geral;

G_i : efeito do tratamento i, seja ele (SB SF, SB CF, CB SF, CB CF)

A_j : efeito do j-ésimo ambiente;

GA_{ij} : efeito da interação do i-ésimo genótipo com o j-ésimo ambiente;

E_{ijk} : erro experimental associado à observação.

A comparação entre medias realizada pelo teste de Scott-Knott, um nível de significância de 5%, facilitando a interpretação dos resultados. Por último, a correlação entre variáveis foi feita para testar a relação entre os sintomas de podridão de colmo causado pelos diferentes patógenos.

4 RESULTADOS

A interação entre *Bacillus subtilis* e a planta de milho foi medida a partir do biofilme, quantificando as células formadoras de colônias por grama de raiz (UFC/g), sendo considerada a diluição 10^5 para todas as amostras. Os resultados mostraram que todos os híbridos testados apresentaram colonização, embora a mesma foi significativamente variável ($p < 0,05$), em que DKB390 foi o híbrido que mais afinidade teve com a bactéria, enquanto CD3770 foi o híbrido que apresentou menos UFC por grama de raiz (Tabela 2).

Tabela 2. Classificação de maior a menor número de UFC de *Bacillus subtilis* por grama de raiz em cada genótipo de milho comercial.

HÍBRIDOS	UFC/g
DKB390	38 a
2B640	36 a
2B688	24 b
BM855	10 c
CD3770	3 c

Fonte: Do Autor (2020).

Nos dados coletados no primeiro período (experimento 1), na variável comprimento da parte aérea, todos os híbridos tratados com *Bacillus subtilis* apresentaram um aumento significativo quando comparados com a testemunha (Tabela 3, em vermelho). Quando foram contrastadas as amostras infectadas com *Fusarium verticillioides* e a testemunha, evidenciou-se um aumento significativo nas amostras infectadas nos híbridos DKB390, 2B640 e BM855 (Tabela 3, sinalado em roxo). Tendo a mesma participação ao ser contrastadas as amostras tratadas com *B. subtilis* e as amostras infectadas e tratadas com *B. subtilis*, tendo um comprimento da parte aérea maior as plantas com a presença do fungo. Já para comprimento radicular houve um aumento significativo nas amostras infectadas com o fungo ao ser comparadas com a testemunha nos híbridos DKB390, 2B640, 2B688 e CD3770 (Tabela 3, em roxo). Quando as amostras tratadas com *B. subtilis* foram contrastadas com as plantas tratadas e infectadas com o fungo, observou-se um aumento significativo do comprimento radicular na presença do fungo nos híbridos DKB390 e BM855 (Tabela 3, em roxo). Para finalizar, foram encontradas diferenças significativas no peso da parte aérea no híbrido CD3770 após tratamento com *F. verticillioides* ao ser comparadas com as

testemunhas. E quanto ao peso radicular, o híbrido 2B688 apresentou um aumento significativo nas plantas infectadas com o fungo quando comparados com a testemunha (Tabela 3, em roxo).

Em campo, os dados de comprimento e peso da parte aérea da planta, assim como a densidade, não teve efeito significativo. Observou-se um comportamento homogêneo entre os híbridos, sem sinais de efeito diferencial da bactéria nesta etapa da planta em condições em campo.

Tabela 3. Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos nas diferentes variáveis avaliadas no primeiro experimento em casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia – UFLA, Lavras, Brasil. 2020.

EXPERIMENTO 1																					
		COMP (A)					COMP (R)					PESO(A)					PESO(R)				
HÍBRIDOS	TRAT.	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770
SB	SF	18.25Ab	21.75Ab	21.75Aa	18.18Ab	19.75Aa	35.38Bb	29.08Bb	34.75Bb	31.88Ba	42.63Ab	0.33Aa	0.33Aa	0.31Aa	0.34Aa	0.37Ab	0.60Aa	0.43Aa	0.62Ab	0.89Aa	0.69Aa
	CF	24.00Aa	27.37Aa	25.15Aa	26Aa	22.63Aa	52.75Aa	41.50Ba	46.62Aa	37.63Ba	53.63Aa	0.36Ba	0.33Ba	0.33Ba	0.42Aa	0.47Aa	0.68Aa	0.62Aa	1.02Aa	0.65Aa	0.86Aa
CB	SF	19.12Bb	24.05Ab	24.08Aa	20.75Bb	20.25Ba	38.50Ab	30.75Aa	37.50Aa	30.13Bb	41.13Aa	0.29Aa	0.32Aa	0.32Aa	0.31Aa	0.38Aa	0.48Ba	0.57Ba	0.74Aa	0.79Aa	0.97Aa
	CF	23.63Ba	28.25Aa	26.33Aa	25.00Aa	21.00Ba	48.25Aa	40.08Aa	40.08Aa	39.00Aa	45.25Aa	0.34Aa	0.38Aa	0.39Aa	0.35Aa	0.38Aa	0.55Aa	0.70Aa	0.86Aa	0.60Aa	0.76Aa
SF	SB	18.25Db	22.45Ab	21.75Bb	18.17Db	19.75Cb	35.36Ba	29.08Ca	34.75Ba	31.88Ca	42.63Aa	0.33Aa	0.33Aa	0.31Aa	0.34Aa	0.37Aa	0.60Aa	0.43Aa	0.62Aa	0.89Aa	0.69Aa
	CB	19.13Da	24.05Aa	24.08Aa	20.75Ba	20.25Ca	38.50Aa	30.75Ba	37.50Aa	30.13Aa	41.13Aa	0.29Aa	0.32Aa	0.32Aa	0.31Aa	0.38Aa	0.48Aa	0.57Aa	0.74Aa	0.79Aa	0.97Aa
CF	SB	24.00Aa	27.38Aa	25.15Aa	26.00Aa	22.63Aa	52.75Aa	41.50Ba	46.63Aa	37.63Ba	53.63Aa	0.36Ba	0.33Ba	0.33Ba	0.42Aa	0.47Aa	0.68Ba	0.62Ba	1.02Aa	0.65Ba	0.86Aa
	CB	23.63Ba	28.25Aa	26.33Aa	25.00Aa	21.00Ba	48.25Aa	40.38Aa	40.08Aa	39.00Aa	45.25Aa	0.34Aa	0.38Aa	0.39Aa	0.35Aa	0.38Aa	0.55Aa	0.70Aa	0.86Aa	0.60Aa	0.76Aa

SB: Sem *Bacillus subtilis* CB: Com *Bacillus subtilis* SF: Sem *Fusarium verticillioides* CF: Com *Fusarium verticillioides*

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem estatisticamente entre si.

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem estatisticamente entre si.

Fonte: Do Autor (2020).

No segundo período (experimento 2), foi acrescentada a variável volume radicular. Os dados coletados nesse período apresentaram relações significativas na maioria das variáveis.

Começando pela variável comprimento da parte aérea, encontramos relações estatisticamente significativas no híbrido BM855, apresentando um aumento nas amostras tratadas quando comparadas com as plantas com *B. subtilis* e *F. verticillioides*. Na mesma variável, o híbrido DKB390 também apresentou um aumento significativo no tratamento com *B. subtilis* ao ser comparado com a testemunha (Tabela 4, sinalado em vermelho). Para a variável comprimento radicular encontrou-se um incremento significativo no híbrido BM855 para as amostras infectadas ao ser contrastadas com a testemunha. De igual forma para o híbrido DKB390, observou-se um aumento significativo nas plantas infectadas e tratadas com *B. subtilis* ao serem comparadas com amostras tratadas só com *B. subtilis* (Tabela 4, em roxo). Em relação ao peso da parte aérea, resultou que os híbridos DKB390, 2B688 e BM855, apresentaram um aumento estatisticamente significativo no tratamento com *B. subtilis* ao serem contrastados com as amostras tratadas e infectadas com *F. verticillioides* (Tabela 4, em vermelho). Na mesma variável encontrou-se diferenças significativas no híbrido BM855 nas plantas tratadas *B. subtilis* ao se comparar com a testemunha (Tabela 4, em vermelho), e no híbrido DKB390 observou-se um aumento nas amostras infectadas com *F. verticillioides* quando comparadas com as plantas tratadas e infectadas (Tabela 4, em roxo). Já para a variável peso radicular encontrou-se diferenças significativas nos híbridos DKB390 e BM855 nas amostras tratadas ao ser contrastadas com as plântulas tratadas com *B. subtilis* e infectadas com *F. verticillioides* (Tabela 4, em vermelho). Assim mesmo, verificou-se um aumento significativo nas amostras DKB390 e 2B640 nas amostras infectadas, ao serem comparadas com as plantas tratadas e infectadas. E de igual forma o híbrido 2B688 mostrou um aumento significativo nas amostras infectadas, ao ser contrastadas com a testemunha. Para a variável “volume” encontrou-se que o híbrido 2B640 apresentou um aumento nas amostras infectadas, quando contrastadas com a testemunha (Tabela 4, em roxo). Em relação à densidade radicular diferenças significativas foram encontradas nos híbridos DKB390 nas plantas tratadas quando contrastadas com a testemunha (Tabela 5, em vermelho), e nas amostras infectadas quando comparadas com as plântulas tratadas com *B. subtilis* e infectadas com *F. verticillioides* (Tabela 5, em roxo). Finalmente, encontrou-se que o híbrido DKB390 apresentou uma densidade aérea significativamente maior nas amostras infectadas ao serem contrastadas com as plantas infectadas e tratadas (Tabela 6, em roxo).

Tabela 4. Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos nas diferentes variáveis avaliadas no segundo experimento em casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia – UFLA, Lavras, Brasil. 2020.

EXPERIMENTO 2																										
		COMP (A)					COMP (R)					PESO(A)					PESO(R)					VOL				
HÍBRIDOS	TRAT.	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770
SB	SF	15.25Ba	19.25Aa	11.88Ba	21.38Aa	14.63Ba	42.13Aa	28.75Ba	41.50Aa	24.75Bb	26Ba	0.41Aa	0.41Aa	0.41Aa	0.41Aa	0.41Aa	0.69Aa	0.51Aa	0.66Ab	0.47Aa	0.79Aa	15.50Aa	13.75Ab	8.75Aa	15.00Aa	18.75Aa
	CF	15.13Ba	21.50Aa	16.38Ba	20.63Aa	13.50Ba	25.50Bb	35.25Ba	37Ba	54.25Aa	38.75Ba	0.45Aa	0.48Aa	0.33Ba	0.33Ba	0.30Ba	1.00Aa	0.72Ba	1.12Aa	0.42Ba	0.5Ba	13.75Aa	22.63Aa	15.75Aa	17.50Aa	15.00Aa
CB	SF	20.88Aa	18.75Aa	13.13Ba	22.00Aa	9.75Ba	21.00Ab	28.63Aa	36.00Aa	25.63Aa	34.75Aa	0.46Aa	0.40Ba	0.27Bb	0.56Aa	0.33Ba	0.88Aa	0.44Ba	0.70Aa	0.74Aa	0.49Ba	12.50Aa	11.25Aa	13.75Aa	13.75Aa	12.50Aa
	CF	16.75Aa	20.38Aa	15.25Aa	15.63Ab	11.75Aa	36.25Aa	28.50Aa	37.75Aa	32.75Aa	40.75Aa	0.31Ab	0.42Aa	0.44Aa	0.34Ab	0.40Aa	0.43Bb	0.40Ba	0.91Aa	0.43Bb	0.58Ba	9.50Aa	15.00Aa	12.50Aa	12.50Aa	13.75Aa
SF	SB	15.25Bb	19.25Aa	11.88Ba	21.38Aa	14.63Ba	42.13Aa	28.75Ba	41.50Aa	24.75Ba	26.00Ba	0.41Aa	0.41Aa	0.31Aa	0.41Ab	0.41Aa	0.69Aa	0.51Aa	0.66Aa	0.47Aa	0.79Aa	15.50Aa	13.75Aa	8.75Aa	15.00Aa	18.75Aa
	CB	20.88Aa	18.75Aa	13.13Ba	22.00Aa	9.75Ba	21.00Ab	28.63Aa	36.00Aa	25.63Aa	34.75Aa	0.46Aa	0.40Ba	0.27Ba	0.56Aa	0.33Ba	0.88Aa	0.44Aa	0.69Aa	0.74Aa	0.49Aa	12.50Aa	11.25Aa	9.00Aa	13.73Aa	12.50Aa
CF	SB	15.13Ba	21.50Aa	16.38Ba	20.63Aa	13.50Ba	25.50Ba	35.25Ba	37.00Ba	54.25Aa	38.75Ba	0.45Aa	0.48Aa	0.45Aa	0.33Ba	0.30Ba	1.00Aa	0.72Ba	1.12Aa	0.42Ba	0.50Ba	13.75Aa	22.63Aa	15.75Aa	17.50Aa	15.00Aa
	CB	16.75Aa	20.38Aa	15.25Aa	15.63Aa	11.75Aa	36.25Aa	28.50Aa	37.75Aa	32.75Ab	40.75Aa	0.31Ab	0.42Aa	0.44Aa	0.34Aa	0.40Aa	0.43Bb	0.40Bb	0.91Aa	0.43Ba	0.58Ba	9.5Aa	15.00Aa	16.25Aa	12.50Aa	13.75Aa

SB: Sem *Bacillus subtilis* CB: Com *Bacillus subtilis* SF: Sem *Fusarium verticillioides* CF: Com *Fusarium verticillioides*

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem estatisticamente entre si.

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem estatisticamente entre si.

Fuente: Do Autor (2020).

Tabela 5. Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos na variável densidade da raiz avaliada no segundo experimento em casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia – UFLA, Lavras, Brasil. 2020.

EXPERIMENTO 2																					
		COMPRIMENTO (R)					PESO (R)					DENSIDADE (R)					VOL (R)				
HIBRIDOS TRAT.		DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770
		SF	SB	42.13Aa	28.75Ba	41.50Aa	24.75Ba	26,00Ba	0.69Aa	0.51Aa	0.66Aa	0.47Aa	0.79Aa	1.71Ab	2.02Aa	1.62Aa	1.05Aa	1.03Aa	15.50Aa	13.75Aa	8.75Aa
	CB	21.00Ab	28.63Aa	36.00Aa	25.63Aa	34.75Aa	0.88Aa	0.44Aa	0.70Aa	0.74Aa	0.49Aa	4.23Aa	1.55Ba	2.12Ba	3.22Aa	1.46Bb	12.50Aa	11.25Aa	9.00Aa	13.75Aa	12.50Aa
CF	SB	25.50Ba	35.25Ba	37.00Ba	54.25Aa	38.75Ba	1.00Aa	0.72Ba	1.122Aa	0.42Ba	0.50Ba	4.06Aa	1.98Ba	3.51Aa	0.79Ba	1.38Ba	13.75Aa	22.63Aa	15.75Aa	17.50Aa	15.00Aa
	CB	36.25Aa	28.50Aa	37.75Aa	32.75Ab	40.75Aa	0.43Bb	0.40Bb	0.91Aa	0.43Aa	0.0.58Ba	1.22Ab	1.56Aa	2.68Aa	1.45Aa	1.70Aa	9.50Aa	15.00Aa	16.25Aa	12.50Aa	13.75Aa

SB: Sem *Bacillus subtilis* CB: Com *Bacillus subtilis* SF: Sem *Fusarium verticillioides* CF: Com *Fusarium verticillioides*

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem estatisticamente entre si.

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem estatisticamente entre si.

Fonte: Do Autor (2020).

Tabela 6. Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos na variável densidade da parte aérea avaliadas no segundo experimento em casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia – UFLA, Lavras, Brasil. 2020.

EXPERIMENTO 2																
		COMPRIMENTO (A)					PESO (A)					DENSIDADE (A)				
TRAT.	HÍBRIDOS	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770
SF	SB	15.25Aa	19.25Aa	11.88Aa	21.38Aa	14.63Aa	0.41Aa	0.41Aa	0.31Aa	0.40Aa	0.41Aa	2.81Aa	2.21Aa	2.77Aa	2.21Aa	2.83Aa
	CB	20.88Aa	18.75Aa	13.13Ba	22Aa	9.75Ba	0.46Aa	0.40Aa	0.27Aa	0.56Aa	0.33Aa	2.22Aa	2.17Aa	2.25Aa	2.58Aa	3.70Aa
CF	SB	15.13Ba	21.50Aa	16.38Ba	20.63Aa	13.50Ba	0.45Aa	0.48Aa	0.45Aa	0.33Ba	0.30Ba	3.73Aa	2.25Aa	2.88Aa	1.60Aa	2.20Aa
	CB	16.75Aa	20.38Aa	15.25Aa	15.63Aa	11.75Aa	0.31Ab	0.42Aa	0.44Aa	0.34Aa	0.40Aa	1.81Ab	1.05Aa	3.14Aa	2.48Aa	3.35Aa

SB: Sem *Bacillus subtilis* CB: Com *Bacillus subtilis* SF: Sem *Fusarium verticillioides* CF: Com *Fusarium verticillioides*

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem estatisticamente entre si.

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem estatisticamente entre si.

Fonte: Do Autor (2020).

Tabela 7. Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos nas diferentes variáveis avaliadas considerando os dois experimentos em casa de vegetação no Departamento de Fitopatologia – UFLA, Lavras, Brasil. 2020.

TODOS OS EXPERIMENTOS																					
		COMP (A)					COMP (R)					PESO(A)					PESO(R)				
HÍBRIDOS TRAT.		DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770
SB	SF	16.75Aa	20.85Aa	16.81Aa	19.78Aa	17.19Aa	38.75Aa	28.91Aa	38.13Aa	28.31Ab	34.31Ab	0.37Aa	0.37Aa	0.31Aa	0.37Aa	0.39Aa	0.64Aa	0.47Aa	0.64Ab	0.68Aa	0.74Aa
	CF	19.56Aa	24.44Aa	20.76Aa	23.31Aa	18.06Aa	39.13Aa	38.38Aa	41.81Aa	45.94Aa	46.19Aa	0.61Aa	0.40Aa	0.39Aa	0.37Aa	0.38Aa	0.84Aa	0.67Ba	1.07Aa	0.53Ba	0.68Ba
CB	SF	20.00Aa	21.40Aa	18.60Aa	21.38Aa	15.00Aa	29.75Bb	29.69Ba	36.75Aa	27.88Ba	37.94Aa	0.37Aa	0.36Aa	0.30Aa	0.42Aa	0.36Aa	0.68Aa	0.51Aa	0.72Aa	0.77Aa	0.73Aa
	CF	20.19Aa	24.31Aa	20.79Aa	20.31Aa	16.38Aa	42.25Aa	34.44Aa	38.91Aa	35.88Aa	43.00Aa	0.32Aa	0.40Aa	0.42Aa	0.35Aa	0.39Aa	0.49Ba	0.55Ba	0.89Aa	0.51Bb	0.67Ba
SF	SB	16.75Aa	20.85Aa	16.82Aa	19.78Aa	17.19Aa	38.75Aa	28.91Ba	38.13Aa	28.31Ba	34.31Aa	0.37Aa	0.37Aa	0.31Aa	0.37Aa	0.39Aa	0.64Aa	0.47Aa	0.64Aa	0.67Aa	0.74Aa
	CB	20.00Aa	21.40Aa	18.60Aa	21.38Aa	15.00Ba	29.75Bb	29.69Ba	36.75Aa	27.88Ba	37.94Aa	0.37Aa	0.36Aa	0.29Aa	0.43Aa	0.36Aa	0.68Aa	0.51Aa	0.72Aa	0.77Aa	0.73Aa
CF	SB	19.60Aa	24.44Aa	20.76Aa	23.31Aa	18.06Aa	39.13Aa	38.37Aa	41.81Aa	45.94Ba	46.19Aa	0.40Ba	0.40Aa	0.39Aa	0.37Aa	0.38Aa	0.84Ba	0.67Ca	1.07Aa	0.53Ca	0.68Ca
	CB	20.19Aa	24.31Aa	20.79Aa	20.31Aa	16.38Ba	42.25Aa	34.44Aa	38.91Aa	35.88Aa	43.00Aa	0.32Aa	0.40Aa	0.42Aa	0.35Aa	0.39Aa	0.49Bb	0.55Ba	0.89Aa	0.51Ba	0.67Ba

SB: Sem *Bacillus subtilis* CB: Com *Bacillus subtilis* SF: Sem *Fusarium verticillioides* CF: Com *Fusarium verticillioides*

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem estatisticamente entre si.

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem estatisticamente entre si.

Fonte: Do Autor (2020).

Quando são considerados os dados dos dois períodos, se observam diferenças significativas na área radicular, no comprimento, pelos híbridos DKB390, BM855 e CD3770, e no peso, pelos híbridos DKB390, 2B688 e BM855, os outros híbridos não apresentaram diferenças significativas em nenhum dos tratamentos.

Os híbridos que apresentaram diferenças significativas na variável comprimento radicular mostraram maiores resultados nas amostras infectadas por *F. verticillioides*, mesmo sem o tratamento. Ao comparar as amostras infectadas como a testemunha, assim como o tratamento com *B. subtilis* e os dois microrganismos, resultou que as amostras com *F. verticillioides* mostraram maior comprimento radicular (Tabela 7, em roxo). Na variável “peso radicular” se vê esse comportamento nos híbridos DKB390 e 2B688, mas não no híbrido BM855 que apresentou um maior peso radicular nas plantas tratadas ao ser comparadas com as amostras que continham os dois microrganismos (Tabela 7, em vermelho).

Os resultados mostram que para os dados coletados nesses dois períodos, o híbrido DKB390 é favorecido pela infecção por *F. verticillioides*. Para o híbrido BM855, o tratamento com *B. subtilis* mostrou-se efetivo frente ao controle da infecção por *F. verticillioides*. Já os híbridos CD3770 e 2B688 apesar de ter resultados que apontam ao crescimento da parte aérea nas amostras infectadas por *Fusarium*, os resultados não foram paralelos no comprimento e peso, resultando em raízes pouco saudáveis.

Para a avaliação de podridão de colmo em campo, foram encontrados três patógenos nas amostras que apresentaram podridão de colmo sendo, *Fusarium*, *Colletotrichum* e *Sternocarpella*, em que os resultados mostraram que no tratamento com *Bacillus subtilis* houve diferenças significativas nos híbridos 2B640, 2B688 e BM855. Para estes dois últimos híbridos, os resultados mostraram um menor número de plantas afetadas por *F. verticillioides* no tratamento com a bactéria (Tabela 8, em vermelho). Porém, no híbrido 2B640 se teve menor número de plantas afetadas na ausência de tratamento (Tabela 8, sinalado em roxo).

Para as amostras que apresentaram podridão de colmo causada por *Colletotrichum* e *Sternocarpella*, teve diferenças significativas apenas no caso do patógeno *Colletotrichum* no híbrido DKB390, em que o tratamento por *Bacillus* consegue uma diminuição de plantas afetadas.

Tabela 8. Média das amostras sadias e sintomáticas para podridão de colmo dos híbridos simples de milho comercial em relação aos tratamentos no experimento em campo na Fazenda Experimental Muquem da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Brasil. 2020.

		PODRIDÃO DE COLMO				
TRAT.	HÍBRIDOS	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770
COM SINTOMAS	SB	5Ba	0Bb	15Aa	17.5Aa	5Ba
	CB	2.5Aa	7.5Aa	0Ab	2.5Ab	5Aa
SADIOS	SB	62.5Aa	62.5Aa	75Aa	70Aa	70Aa
	CB	82.5Aa	70Aa	72Aa	60Aa	70Aa

SB: Sem *Bacillus subtilis* CB: Com *Bacillus subtilis* SF: Sem *Fusarium verticillioides* CF: Com *Fusarium verticillioides*

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem estatisticamente entre si.

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem estatisticamente entre si.

Fonte: Do Autor (2020).

Tabela 9. Média da reação dos híbridos simples de milho comercial com os tratamentos nas variáveis número de grãos e peso de grãos para produtividade no experimento em campo na Fazenda Experimental Muquem da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Brasil. 2020.

PRODUTIVIDADE						
TRAT.	HIBRIDOS	DKB390	2B640	2B688	BM855	CD3770
NUM. GRÃO	SB	633.64Aa	617.17Aa	586.17Aa	579.75Aa	577.67Aa
	CB	539.17Ba	598.67Ba	717.75Aa	520Ba	717.75Aa
PESO GRÃO	SB	1.50Aa	1.42Aa	1.12Ab	1.91Aa	1.71Aa
	CB	1.73Aa	1.55Aa	1.98Aa	1.67Aa	1.28Aa

SB: Sem *Bacillus subtilis* CB: Com *Bacillus subtilis* SF: Sem *Fusarium verticillioides* CF: Com *Fusarium verticillioides*

Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na HORIZONTAL não diferem estatisticamente entre si.

Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na VERTICAL não diferem estatisticamente entre si.

Fonte: Do Autor (2020).

Em relação à produção, viu-se que 2B688 foi o único híbrido que mostrou diferença estatisticamente significativa no tratamento com *Bacillus subtilis*, em que se percebe um aumento na variável peso do grão, pelo qual o tratamento se mostra eficiente contra a infecção pelo patógeno neste híbrido (Tabela 9, sinalado em vermelho).

Tabela 10. Correlação entre os diferentes patógenos achados nas amostras colhidas em campo.

CORRELAÇÃO	
FUS x COLL	-0.11
FUS x STERN	-0.11
FUS x SAD	-0.31
COLL x STERN	-0.12
COLL x SAD	-0.17
STERN x SAD	-0.16

Fonte: Do Autor (2020).

Finalmente, os resultados de correlação, em que o r de Pearson pode variar de -1 a $+1$, em que -1 é uma perfeita correlação negativa (a covariação é inversamente proporcional entre as variáveis) e $+1$ é a perfeita correlação positiva (há uma covariação entre as variáveis diretamente proporcional) (Garson, 2009). Interpretando os dados correlacionados da variável podridão de colmo, observou-se que os mesmos ocorrem dentro de um intervalo de -0.11 e -0.30 , apontando para uma correlação negativa fraca. Por conseguinte, é plausível admitir que os efeitos dos patógenos não estão correlacionados entre si (Tabela 10).

5 DISCUSSÃO

Interação entre *Bacillus subtilis* e os genótipos de milho comercial

Os resultados coincidem com diversos estudos que demonstram que entre os motivos que influenciam a formação de biofilme, se acha a acepção do material genético (O'TOOLE et al, 2000; ARAÚJO et al., 2013; ALVES et al., 2015; AMARAL et al., 2016). Descobrimos que existe uma clara variação na quantidade de UFC/g de raiz entre os diferentes genótipos de milho comercial. Mostrando como a interação pode ser genótipo-dependente entre plantas e bactérias, corroborando a presença dos genes que controlam e determinam as diversas vias metabólicas que liberam moléculas sinalizadoras, afetando e condicionando a associação com os microrganismos, neste caso a bactéria *Bacillus subtilis*.

As informações obtidas permitiram estabelecer uma classificação da associação entre *Bacillus subtilis* e os híbridos simples de milho comercial utilizados no projeto, sendo o DKB390 e 2B640 os genótipos que mostraram maior associação (Tabela 1). Por consequência, estes híbridos apresentam maior produção de moléculas sinalizadoras, exsudados radiculares e indução na alteração no metaboloma vegetal para a produção de hormônios vegetais (MOMMER et al., 2016; CHAGAS et al., 2018; LEMANCEAU et al., 2018). Assim, um fator vital na escolha de genótipos favoráveis para os programas que buscam a implementação deste microrganismo na cultura do milho.

***Bacillus subtilis* como promotor de crescimento em plantas de milho comercial**

B. subtilis está reportada entre as espécies mais utilizadas por sua capacidade de adaptação à formulação comercial e à aplicação em campo. Esta bactéria apresenta diversas características que conferem uma vantagem relevante em relação aos mecanismos de ação relacionados ao controle biológico, bioestimulação e biofertilização (CHERIF-SILINI et al., 2016). Estas cepas conseguem promover o crescimento, regulando-o por meio da produção de fitormônios (auxinas, citocininas, giberelinas e etileno) e enzimas (ej. ACC desaminasa). Também promove a mineralização de nutrientes (solubilização de fosfato, potássio e zinco), fixação de nitrogênio e incremento da capacidade de absorção das raízes, sendo particularmente destacável a produção de fitormônios e sideróforos produzidos pela bactéria em comparação a cepas de outras espécies (WANG et al., 2018).

Entre os dados coletados, observou-se que *Bacillus subtilis* atuou como promotor de crescimento na parte aérea, radicular, e conseguiu melhorar a produtividade, em alguns dos híbridos estudados. Este aumento foi evidenciado na obtenção de raízes com um peso significativamente maior nos híbridos DKB390 (Tabela 7 e Tabela 8) e BM855 (Tabela 7 e Tabela 10), quando comparados com as amostras que foram infectadas e tratadas com a bactéria (*Bacillus-Fusarium*). De igual forma com um peso aéreo significativamente maior nos híbridos DKB 390, 2B688 e BM855 (Tabela 7) quando comparado com as amostras tratadas e infectadas assim quando comparadas com a testemunhas no último híbrido. Também se obteve um incremento significativo no comprimento da parte aérea no híbrido DKB390 (Tabela 3 e Tabela 7), BM855 (Tabela 3, Tabela 4 e Tabela 7) quando foi comparado com as amostras tratadas e infectadas e a testemunha. E finalmente, na produtividade, o peso dos grãos foi significativamente maior que a testemunha no híbrido 2B688 (Tabela 12).

Apesar dos eventos anteriormente descritos terem sido concordantes com a literatura, quando comparados aos tratamentos restantes, observou-se uma relação não significativa. Desta forma, os casos descritos seriam singulares em mostrar os efeitos de *Bacillus subtilis* como promotor do crescimento. Não obstante, os dados mostraram maior participação do fungo *Fusarium verticillioides* na promoção de crescimento nos genótipos estudados, pois, diferindo apenas da variável produtividade, *F. verticillioides* também apresentou efeitos sobre o crescimento das raízes e da parte aérea. Se obtiveram raízes com um peso significativamente maior nos híbridos 2B688 (Tabela 3) ao ser comparadas as amostras infectadas com a testemunha, 2B688 (Tabela 7) quando comparado com a testemunha, DKB 390 e 2B640 (Tabela 7) quando comparado com as amostras tratadas e infectadas. Assim mesmo os híbridos 2B688 (Tabela 10) quando contrastado com a testemunha e DKB390 (Tabela 10) ao ser comparadas as plantas infectadas com as amostras tratadas e infectadas. Também se obteve um incremento no comprimento radicular nos híbridos DKB390 (Tabela 3, Tabela 7, Tabela 8 e Tabela 10), 2B640 (Tabela 3 e Tabela 7), BM855 (Tabela 3 e Tabela 7) e CD3770 (Tabela 3 e Tabela 10) na maioria das comparações com os outros tratamentos. E finalmente, na parte aérea resultou em um comprimento significativamente superior nos híbridos DKB390, 2B640 e BM855, quando comparados com a testemunha e as amostras tratadas e infectadas (Tabela 3).

É importante ressaltar que para os efeitos causados por *Fusarium verticillioides* nos híbridos que apresentaram alongamento radicular, mas não coincidiram com um peso igualmente

significativo nessa área (2B640 e BM855), podem estar diretamente relacionados a fatores de virulência de hipertrofia e hiperplasia. Esses efeitos são causados por um desequilíbrio hormonal, que resulta em um crescimento anormal do órgão, assim como um efeito de superalongamento, sendo órgãos debilitados e pouco saudáveis que podem evoluir para necrose e morte de plantas em estágios mais avançados do desenvolvimento da doença (AGRIOS, G., 2005).

Os resultados relacionados à promoção de crescimento causado pelo fungo não são diferentes aos obtidos com microrganismos benéficos. Estudos mostram como o comportamento e crescimento do fungo *Fusarium verticillioides* está diretamente condicionado pelos efeitos ambientais, mostrando como as temperaturas altas favorecem a interação com o hospedeiro consequentemente interferindo no crescimento vegetal (MURILLO, W. & MUNKVOLD, G. P., 2008; DOOHAN, F. et al. 2003). Não foram encontrados relatos que coincidiram com o comportamento promotor do fungo. A tendência vista nos nossos dados não foi tão claramente definida, e pode ser necessário realizar experimentos com maior poder estatístico a fim de esclarecer a relação benéfica de *F. verticillioides* com os genótipos de milho estudados. É importante ressaltar a relevância de se aprofundar nos aspectos bioquímico-moleculares associados à promoção do desenvolvimento, a fim de propiciar novas estratégias em prol da estabilidade da produção. Conhecer os mecanismos envolvidos nas interações biológicas favoráveis à produtividade das culturas pode beneficiar o melhoramento genético, bem como, práticas culturais. Assim como se deve considerar os impactos da temperatura em diferentes estágios de crescimento relatando a tendência de crescimento do fungo em relação com o crescimento da planta, e assim verificar a participação da temperatura no resultado final.

Esses resultados indicam a possibilidade de aprofundar e explorar novos enfoques para o controle biológico tendo em consideração os genótipos e ambientes a se trabalhar.

Bacillus subtilis* como controlador de *Fusarium verticillioides

Diversos estudos demonstram que *Bacillus subtilis* tem ação antifúngica, capaz de reduzir a taxa de crescimento micelial, produção, germinação e sobrevivência de conídios, assim como a diminuição da contaminação por micotoxinas. Esses fatores fazem com que *B. subtilis* seja ideal para o controle de *Fusarium verticillioides*, conseguindo proteger as plantas tratadas com esta bactéria (BONMATIN et al. 2003; ONGENA & JACQUES, 2008; LEI et al., 2014). De igual forma, os resultados obtidos para os genótipos 2B688 e BM855 em campo se ajustam a estes

estudos, observando uma diminuição de indivíduos com podridão de colmo causado pelo fungo *Fusarium verticillioides* comparado com a média de 15 e 17,5 indivíduos encontrados com sintomas no tratamento sem *Bacillus subtilis* (Tabela 11). Porém, esse efeito se apresentou unicamente nesses dois casos.

A literatura relata que existem vários motivos que influenciam na ação de *Bacillus subtilis*, entre eles, a capacidade de acepção do material genético, a disponibilidade de nutrientes, temperatura, osmolaridade, pH, concentração de oxigênio e a interferência de outros microrganismos (O'TOOLE et al, 2000). Para esse último, realizou-se análise de correlação que comprovou a relação por interação dos dados com os patógenos encontrados nas amostras do caule coletados com sintomas de podridão de colmo. Contudo, resultou que nenhum dos efeitos provocados pelos microrganismos, encontrados no caule, apresentou correlação que pudesse interferir na resposta sistêmica por *Bacillus subtilis*. Porém, não se descartou a existência de outro grupo de microrganismos, nem se estudou as condições físico-químicas da rizosfera dos genótipos que pudesse dificultar a interação sistêmica entre *Bacillus* e a planta. Por conseguinte, mais pesquisas devem lidar com os fatores e condições que dificultam a resposta e ação da bactéria, que expliquem a ausência de efeitos encontrado na Fazenda Experimental Muquem da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Brasil.

6 CONCLUSÕES

- Existe variabilidade para a formação do biofilme por *Bacillus subtilis* e a diversidade genética do cultivar, sendo DKB390, 2B640 e 2B688 os híbridos que apresentaram maior UFC por grama de raiz, portanto, uma maior interação e associação com a bactéria;
- *Bacillus subtilis* atuou como promotor de crescimento nos híbridos DKB390 e BM855 no aumento da parte aérea e radicular, e em campo um aumento na produtividade do híbrido 2B688;
- *Fusarium verticillioides* mostrou-se como promotor de crescimento nos genótipos DKB390, 2B6040, 2B688, BM855 e CD3770, em pelo menos uma das variáveis de crescimento aéreo e radicular;
- Foram evidenciados os efeitos antifúngicos de *Bacillus subtilis* para o controle de *Fusarium verticillioides* unicamente nos híbridos 2B688 e BM855;
- Não se encontraram dados estatisticamente significativos que demonstraram o aumento na produtividade do milho tratado com *Bacillus subtilis* na presença de *Fusarium verticillioides*.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-MONAIM, M. F., ABO-ELYOUSR K A. M. E MORSY, K. M. (2011). Effectiveness of plant extracts on suppression of damping-off and wilt diseases of lupine (*Lupinus termis* Forsik). **Crop protection**, 30(2), 185-191.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). 2011. Diário Oficial da União, República Federativa do Brasil, Brasília-DF. Nº 46–09 / 03/11 - **Seção 1 - p.66. Resolução nº 7, pp. 66.** Disponível online: <https://www.jusbrasil.com.br/diarios/25204244/pg-66-secao-1-diario-oficial-da-uniao-dou-de-09-03-2011> (acessado em 20 de março de 2020).

AGRIOS, G. 2005. Plant Pathology. 5ed. Nueva York. **Elsevier Academic Press**. 922 p.

AFSSA. French Food Safety Agency: Assessment of the risk associated with the presence of mycotoxins in the human and animal food chains. **Final report**. 2009;308.

AHEMAD M & KIBRET M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. **J King Saud Univ Sci** 26 (1): 1–20. doi: 10.1016 / j.jksus.2013.05.001

AHMAD, F., AHMAD, I., KHAN, M.S., 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiological Research** 163, 173-181.

ANAND S, HASSAN A, & AVADHANULA M. Os efeitos dos biofilmes formados nas membranas de osmose reversa do soro na qualidade microbiana do produto concentrado. **Int. J. Dairy Technol.** 2012; 65 : 451-455

AMARAL, F. P., PANKIEVICZ, V. C., ARISI, A. C. M., DE SOUZA, E. M., PEDROSA, F., & STACEY, G. (2016). Differential growth responses of *Brachypodium distachyon* genotypes to inoculation with plant growth promoting rhizobacteria. **Plant Mol. Biol.** 90, 689-697. doi: 10.1007/s11103-016-0449-8

ALBORCH, L. et al. Mycobiota and mycotoxin contamination of maize flours and popcorn kernels for human consumption commercialized in Spain. **Food Microbiology, London**, v. 32, p. 97-103, 2012.

ALCARAZ LD, MORENO-HAGELSIEB G, EGUIARTE LE, SOUZA V, HERRERA-ESTRELA L & OLMEDO G. 2010. Understanding the evolutionary relationships and major traits of *Bacillus* through comparative genomics. **BMC Genomics**.

ALLARD, R.W. Principles of plant breeding. São Paulo: **Edgard Blüchner**. 1971. 381 p.

ALVES, G. C., VIDEIRA, S. S., URQUIAGA, S., & REIS, V. M. (2015). Differential plant growth promotion and nitrogen fixation in two genotypes of maize by several *Herbaspirillum* inoculants. **Plant Soil**. **387**, 307-321. doi: 10.1007/s11104-014- 2295-2

ARAÚJO, A. E. DA S., BALDANI, V. L. D., GALISA, P. DE S., PEREIRA, J. A., & BALDANI, J. I. (2013). Response of traditional upland rice varieties to inoculation with selected diazotrophic bacteria isolated from rice cropped at the Northeast region of Brazil. **Appl. Soil Ecol.** **64**, 49-55. doi: 10.1016/j.apsoil.2012.10.004

AKRAM W, ANJUM T E ALI B, 2016. Phenylacetic Acid Is ISR Determinant Produced by *Bacillus fortis* IAGS162, Which Involves Extensive Re-modulation in Metabolomics of Tomato to Protect against *Fusarium* Wilt. **Frontiers in Plant Science**.

BERND L. P., 2010 *Fusarium verticillioides* and fumonisin in maize production chain: mathematical modeling and control strategy. (Thesis) - Graduate Program in Food Science. **Center for Agricultural Sciences Department of Food Science and Technology**. Londrina, Paraná.

BONMATIN, J.M.; LAPRÉVOTE, O.; PEYPOUX, F. Diversity among microbial cyclic lipopeptides: iturins and surfactins. Activity-structure relationships to design new bioactive agents. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, Hilversum, v. 6, p. 541-556, 2003.

BORDIN K, ROSIM RE, NEEFF DV, ROTTINGHAUS GE, OLIVEIRA CAF. 2014. Assessment of dietary intake of fumonisin B1 in São Paulo, Brazil. *Food Chem.* 155, 174–178.

BRASIL, 2013. Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. **Agribusiness Projections: Brazil 2012/2013 to 2022/2023** / Ministry of Agriculture, Livestock and Supply. Strategic Management Advisory. – Brasília: Mapa/ACS.

BRASIL. Ministry of Agriculture, Livestock and Supply (MAPA). **Brazil Agribusiness Projections 2010/2011 To 2020/2021.** 2011. Available at:http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/Ministerio/gestao/projecao. Access in: 02 abr. 2013.

BRODERS, K. D. 2007. Evaluation of *Fusarium graminearum* associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 91, n. 3, p. 1155-1160.

BRODERS, K.D. Characterization of *Pythium* spp. associated with corn and soybean seed and seedling disease in Ohio. **Plant Disease**, Saint Paul, v. 91, p.127-735, 2007.

CAPPELINI, L. T. D. 2005. Effect of *Fusarium moniliforme* on the quality of maize seeds. **Científica, Jaboticabal**, v. 33, n. 2, p. 185-191,

CALVO P E ZUÑIGA D. 2010. Physiological characterization of *Bacillus* spp. isolated from the rhizosphere of potato (*Solanum tuberosum*). **Ecología aplicada**. 9:31-39.

CAWOY H, DEBOIS D, FRANZIL L, DE PAUW E, THONART P E ONGENA M. 2015. Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*. **Microbial Biotechnology**. 8:281-295. <http://dx.doi.org/10.1111/1751-7915.12238>.

CCA. 2004. Corn and biodiversity: effects of GM corn in Mexico. **Commission for Environmental Cooperation**. México. 45 pp.

CHANGAS, F. O., PESSOTTI, R. C., CARABALLO-RODRÍGUEZ, A. M., & PUPO, M. T. (2018). Chemical signaling involved in plant-microbe interactions. **Chem. Soc. Rev.** 47, 1652-1704. doi: 10.1039/C7CS00343A

CHOUDHARY DK E JOHRI BN. 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants with special reference to induced systemic resistance (ISR). **Microbiological Research**.

CIMMYT. 2002. GM corn in Mexico: current events and research to be done in the future. **International Corn and Wheat Improvement Center, CIMMYT**.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. 2020. 1ª Quinzena Novembro 2020.

COSTA, M. L. N. Inoculation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* in common bean seeds by water restriction. **Science and Agrotechnology, Uberlândia**, v. 27, n. 5, p. 1023-1030, 2003.

CORTEZ-ROCHA, M.O., RAMÍREZ-ASTUDILLO, W.R., SÁNCHEZ MARIÑEZ, R.I., ROSAS-BURGOS, E.C., WONG-CORRAL, F.J., BORBOA-FLORES, J., CASTILLÓN-

CAMPAÑA, L.G., & TEQUIDA MENESES, M. 2003. Fumonisin and fungal species in corn from Sonora, Mexico. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology** 70:668-673.

CRUZ, J. C.; PEREIRA FILHO, I. A.; PIMENTEL, M. A. G.; COELHO, A. M.; KARAM, D.; CRUZ, I.; GARCIA, J. C.; MOREIRA, J. A. A.; OLIVEIRA, M. F. de; GONTIJO NETO, M. M.; ALBUQUERQUE, P. E. P. de; VIANA, P. A.; MENDES, S. M.; COSTA, R. V. da; ALVARENGA, R. C.; MATRANGOLO, W. J. R. Corn Production in Family Farming. Sete Lagoas: **Embrapa Milho e Sorgo**, 2011. 45 p.

CRUZ, J.C.; VERSINI, R.P.; FERREIRA, M.T.R. Cultivo do Milho. Sete Lagoas: **EMBRAPA Corn and Sorghum**, 2000. (Production System, 1). Available in: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/index.htm>>. Acesso em: 02 abr. 2013.

CRUZ, C.D. Programa GENES - versão Windows: aplicativo computacional em genética e estatística. **Viçosa: UFV**, 2001. 648p.

CHOWDHURY, SP, UHL, J., GROSCH, R., ALQUÉS, S., PITTROFF, S., DIETEL, K., ET AL. (2015). Cyclic lipopeptides of *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 subsp. *Plantarum* that colonizes the rhizosphere of lettuce improves the defense responses of the plant towards the pathogen *Rhizoctonia solani*. **Mol. Planta de microbios interactivos**.

DAL BELLO, G. Biocontrol of postharvest grey mould on tomato by yeasts. **Journal of Phytopathology**, Berlin, v. 156, p.257-263, 2008

DANESE PN, PRATT LA, DOVE SL, KOLTER R. The outer membrane protein, antigen 43, mediates cell-to-cell interactions within *Escherichia coli* biofilms. **Mol Microbiol** 2000; 37: 424–32.

DEAGRO. 2016. Safra Mundial de Milho 2016/17 - 3° USDA Survey. **Agribusiness Department FIESPE**. p.1.2016.

DEEPA, H. NAGARAJA, M.Y. SREENIVASA. Prevalence of fumonisin producing *Fusarium verticillioides* associated with cereals grown in Karnataka (India). **Food Science and Human Wellness**. p. 1-7. 2016.

DELGADO, M., RODRÍGUEZ, E., ALVARADO, M., CHÁVEZ, L., ALVARADO, M., COTA, F., & VILLALOBOS, S. El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. **Mexican Journal of Phytopathology**. 2018.

DEMARCHI, M. Analysis of the Agricultural Conjuncture 2011/12 Crop: corn. Curitiba: Secretariat of Agriculture and Supply. **Department of Rural Economy**, 2011. Available in: < www.agricultura.pr.gov.br>. Acesso em: 05/04/2013.

DESJARDINS A.E, PLATTNER RD, LU M & CLAFLIN LE. 1998. Distribution of fumonisins in maize ears infected with strains of *Fusarium moniliforme* that differ in fumonisin production. **Plant Dis**. 82, 953–958

DESJARDINS A.E. 2006. *Fusarium Mycotoxins: Chemistry, Genetics and Biology*; **The American Phytopathology Society**: Saint Paul, MN, USA, p. 268.

DE LEÓN, C. 2004. Corn diseases. A guide for identification in the field. 4th ed. International Corn and Wheat Improvement Center, **El Batán, Mex**. 123 p.

DE LA TORRE, M. E., SÁNCHEZ, D., GALEANA, E., E PLASENCIA, J. 2014. Fumonisins - Synthesis and function in the interaction *Fusarium verticillioides* - **Corn. D.R. TIP Magazine**

Specialized in Chemical-Biological Sciences, 17(1):
<http://www.scielo.org.mx/pdf/tip/v17n1/v17n1a6.pdf>

DIAZ, C. G. Effect of BCC on leaf area and healthy leaf area variables (HAD and HAA) and production components. In DIAZ. C. G. Damage Assessment by *Xanthomonas axonopodis* pv. phaseoli in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Thesis (doctorate). **Escola Superior de Agricultura de Queiroz. Piracicaba, 2000.**

DIAZ, C. G. 2001. Quantificação do efeito do cretamento bacteriano comum na eficiência fotossintética e na produção do feijoeiro. **Fitopatologia Brasileira** v. 26, p. 71-76.

DOMIJAN, A.M. 2012. Fumonisin B1: A neurotoxic mycotoxin/fumonizin B1: Neurotoksični mikotoksin. **Arch. Ind. Hyg. Toxicol.** 63, 531–544.

DOOHAN, F. M., BRENNAN, J., & COOKE, B. M. 2003. Influence of climatic factors on Fusarium species pathogenic to cereals. **Eur. J. Plant Pathol.** 109:755-768

DUARTE, J.O.; GARCIA, J.C.; MIRANDA, R.A. Production Systems: corn cultivation. Seven Ponds: **Embrapa Corn and Sorghum**, 2011. Available in: <http://www.cnpms.embrapa.br/>. Acesso em: 08 mar. 2016.

EC (European Commission). Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in food. **Official Journal of the European Union**, L70 / 12; 2006.

ENGELHARD M. HUREK T. REINHOLD-HUREK B. (2000). Preferential occurrence of diazotrophic endophytes *Azoarcus* spp., in wild rice species and land races of *Oryza sativa* in comparison with modern races. **Environ. Microbiol.** 2, 131–141.

ERRIGTON J. 2003. Regulation of endospore formation in *Bacillus subtilis*. **Nature Reviews Microbiology.** 1:117-126. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro750>

FAO, **Food and Agriculture Organization of the United Nations**. 2014. El estado mundial de la agricultura y la alimentación.

EUROPEAN UNION COMMISSION OF REGULATION COMMISSION REGULATION (EC). 2006. No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, [S.l.], v. 1881.

FANDOHAN, P., GNONLONFIN, B., HELL, K., MARASAS, W.F.O., WINGFIELD, M.J., 2005. Natural occurrence of Fusarium and subsequent fumonisin contamination in preharvest and stored maize in Benin, West Africa. **International Journal of Food Microbiology** 99 (2), 173–183.

FAN H, ZHANG Z, LI Y, ZHANG X, DUAN Y & WANG Q. 2017. Biocontrol of bacterial fruit blotch by *Bacillus subtilis* 9407 via surfactin-mediated antibacterial activity and colonization, **Frontiers in Microbiology Plant Pathogen Interactions**.

FAO, **World Food Situatio, FAO cereal supply and demand brief**. 2020/21: <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/en/>

FAO - **Food and Agricultural Organization** (2019). FAOSTAT, FAO Statistical Databases. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#home> (Acessado em 31 de Março de 2019).

FAO, 2001. THE CORN IN THE TROPICS: Improvement and production. Roma.

FARACE, G., FERNANDEZ, O., JACQUENS, L., COUTTE, F., KRIER, F., & JACQUES, P. 2015. Os lipopeptídeos cíclicos de *Bacillus subtilis* ativam padrões distintos de respostas de defesa na videira. *Mol. Plant Pathol.* 16, 177-187. doi: 10.1111 / mpp.12170

FLACH, J. Biofilm Formation in Different Materials Used in the Milk Process Industry. Porto Alegre, 115 f, 2006. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente) **Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, 2006.

FREIRE, L. & SANT'ANA, A. S. (2018). Modified mycotoxins: An updated review on their formation, detection, occurrence, and toxic effects. **Food and Chemical Toxicology**, 111, pp. 189-205.

GAI X, DONG H, WANG S, LIU B, ZHANG Z, Li X. (2018) Ciclo de infecção da podridão do colmo e da espiga do milho causada por *Fusarium verticillioides*. **PLoS ONE 13 (7)**: e0201588. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201588>

GARCÍA-LARA, S., & SERNA-SALDIVAR, S. O. (2019). Corn History and Culture in Corn. **AACC International Press**, 1-18. doi: 10.1016/B978-0-12-811971-6.00001-2

GARSON, G. David. (2009), Statnotes: Topics in Multivariate Analysis. Disponível em: <http://faculty.chass.ncsu.edu/garson/PA765/statnote.htm>

GLICK, B.R., 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica** 2012, 963401.

GONG M, WANG JD, ZHANG J, YANG H, LU XF, PEI Y E CHENG JQ. 2006. Study of the Antifungal Ability of *Bacillus subtilis* Strain PY-1 in vitro and Identification of its Antifungal Substance (Iturin A). **Acta Biochimica et Biophysica Sinica**.

GUIMARÃES, R.A., PERRONY, P.E.P., MULLER, H., BERG, G., DE MEDEIROS, F.H.V., CERNAVA, T. 2020. Microbiome-guided evaluation of *Bacillus subtilis* BIOUFLA2 application to reduce mycotoxins in maize kernels, **Biological Control**, doi: <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104370>

GUIMARÃES, R.A, ZANOTTO, E., PERRONY, P., ZANOTTO, L., DA SILVA, L., MACHADO, J., PINTO, F., MADEIROS, H., PINHO, R., DE MELO, I., DA SILVA, J., DE MADEIROS, F., DE MADEIROS, F. 2020. Integrating a chemical fungicide and *Bacillus subtilis* BIOUFLA2 ensures leaf protection and reduces ear rot (*Fusarium verticillioides*) and fumonisin content in maize. **Wiley Online Library**, doi: <https://doi.org/10.1111/jph.12968>

HALÁSZ, A. Decontamination of mycotoxin-containing food and feed by biodegradation. **Food Reviews International, New York**, v. 25, p. 284 —298, 2009.

HERNANDEZ M, RANGEL D & DE LA PARRA J. 2014. Fumonisin – Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides* – Maíz. **Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas**, 17(1):77-91

IARC. International Agency for Research on Cancer: Monographs on the medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. In. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans, **Lyon: IARC**. 2002; 82:171-74.

JANISIEWICZ, W.J.; KORSTEN, L. Biological control of postharvest diseases of fruits. **Annual Review of Phytopathology**, Palo Alto, v.40, p.411-441, 2002.

JAYAKUMAR, A., NAIR, I.C. & RADHAKRISHNAN, E.K. ENVIRONMENTAL. Adaptations of an Extremely Plant Beneficial *Bacillus subtilis* Dcl1 Identified Through the Genomic and Metabolomic Analysis. **Microb Ecol** (2020). <https://doi.org/10.1007/s00248-020-01605-7>

JIMÉNEZ, M.; RODRÍGUEZ, S.; MATEO, JJ; GIL, JV y MATEO, R. (2000), Characterization of isolated *Gibberella fujikuroi* complexes by fumonisin B1 and B2 analysis and by RAPD and restriction analysis of internal transcribed spacers amplified by ribosomal DNA PCR. **Microbiología sistemática y aplicada**, 23, 546-555.

JINDAL, K.K.; THIND, B.S. Microflora of cowpea seeds and its significance in the biological control of seedborne infection of *Xanthomonas campestris* pv. *vignicola*. **Seed Science and Technology**, v.18, p.393-403, 1990.

KORSTEN, L. Advances in control of postharvest diseases in tropical fresh produce. **International Journal of Postharvest Technology and Innovation**, Genève, v.1, p.48-61, 2006.

KIM JS, LEE J, LEE CH, WOO SY, KAMG H, SEO SG E KIM SH. 2015. Activation of pathogenesis-related genes by the rhizobacterium, *Bacillus* sp. JS, which induces systemic resistance in tobacco plants. **Plant Pathology Journal**. 31:195-201. <http://dx.doi.org/10.5423/PPJ.NT.11.2014.0122>.

LAYTON C, MALDONADO E, MONROY L, CORRALES LC y SÁNCHEZ LC. 2011. *Bacillus* spp.; perspective of its biocontroller effect through antibiosis in crops affected by phytopathogens. **NOVA Magazine Scientific Publication in Biomedical Sciences**. 9:177-187. <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.501>.

LAZZARETTI, E. Controle de fungos transportados por sementes de trigo com *Bacillus subtilis*. Piracicaba, 1993. 112p. Dissertação (Mestrado) -**Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo.**

LEMANCEAU, P., BARRET, M., BLOUIN, M., MAZURIER, S., & PIVATO, B. (2018). **PlantMicroorganism Interactions in the Rhizosphere**. Soils as a Key Component of the Critical Zone 6: Ecology 6, 57-81. doi: 10.1002/9781119438274.ch4

LEI, Y. P. et al. Degradation of zearalenone in swine feed and feed ingredients by *Bacillus subtilis* ANSB01G. **World Mycotoxin Journal**, Wageningen, v 7, p. 143-151, 2014

LIMA, G. Integration of biocontrol yeast and thiabendazole protects stored apples from fungicide sensitive and resistant isolates of *Botrytis cinerea*. **Postharvest Biology and Technology**, Amsterdam, v.4093, p.301-307, 2006.

LPSN, List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature. 2016. **Genus *Bacillus*. Microbiology Society**. Charles Darwin House, 12 Roger St, London WC1N 2JU, United Kingdom.

LUZ, W.C. Controle microbiológico do mal do pé do trigo pelo tratamento de sementes. **Fitopatologia Brasileira**, v.18, n.1, p.82-85, 1993.

MAIORANO A, REYNERI A, SACCO D, MAGNI A & RAMPONI C. 2009. A dynamic risk assessment model (FUMAGrain) of fumonisina synthesis by *Fusarium verticillioides* in maize grain in Italy. **ScienceDirect**. 243-256.

MARTINEZ, E. L., & FERNANDEZ, F. J. B. (2019). Economics of Production, Marketing and Utilization in Corn, **AACC International Press**, 87-107. doi: 10.1016/B978-0-12-811971-6.00004-8

MAUGHAN H E VAN DER AUWERA G. 2011. *Bacillus* taxonomy in the genomic era finds phenotypes to be essential though often misleading. **Infection, Genetics and Evolution**.

MCNEIL S & MONTROSS M. 2019. Corn harvesting, handling, drying, and storage. **University of Kentucky**, Lexington

MEDEIROS, F.H.V. Biological control of mycotoxin-producing molds. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 36, p. 483-497, 2012.

MEDINA, A., MOHALE, S., SAMUDIN, N. I. P., RODRIGUEZ-SIXTOS, A., RODRIGUEZ, A., & MAGAN, N. 2017. Biocontrol of mycotoxins: dynamics and mechanisms of action. **Curr. Opin. Food Sci.**, 17, 41-48. doi: 10.1016/j.cofs.2017.09.008

MEENA KR E KANWAR SS. 2015. Lipopeptides as the Antifungal and Antibacterial Agents: Applications in Food Safety and Therapeutics. **Bio Med Research International**.

MERRIMAN, P.R.; PRICE, R.D.; KOLLMORGEN, J.F.; PIGGOTT, T.; RIDGE, E.H. Effect of seed inoculation with *Bacillus subtilis* and *Streptomyces griseus* on the growth of cereals and carrots. **Australian Journal of Agricultural Research**, v.25, p.219-226, 1974.

MOMMER, L., KIRKEGAARD, J., & VAN RUIJVEN, J. (2016). Root-root interactions: towards a rhizosphere framework. **Trends Plant Sci.** 21, 209-217. doi: 10.1016/j.tplants.2016.01.009

MORAES, M. H. D. 2003. Chemical control of *Fusarium moniliforme* in maize seeds: evaluation methodology and effects on physiological quality. **Fitopatologia Brasileira, Brasília, DF**, v. 28, n. 6, p. 626- 632.

MURILLO, W. & MUNKVOLD, G. P. 2008. Systemic infection by *Fusarium vertillioides* in maize plants grown under three temperature regimes. **Plant Dis.** 92:1695-1700

NAVES, P.; PRADO, G.; HUELVES, L.; GRACIA, M.; RUIZ, V.; BLANCO, J.; DHABI, G.; BLANCO, M.; PONTE, M. C.; SORIANO, F, 2008. Correlation Between Virulence Factors and in vitro Biofilm Formation by *Escherichia coli* Strains. **Microbial Pathogenesis**, v. 45, 86-91,

O'TOOLE, G.; KAPLAN, H. B.; KOLTER, R. Biofilm formation as microbial development. **Annual Review of Microbiology**, v. 54 49-79, 2000.

PASCUAL, CECILIA & BARCOS, ANA & MANDAP, JULIE AIZA & OCAMPO, EUREKA. (2016). Fumonisin-Producing *Fusarium* Species Causing Ear Rot of Corn in the Philippines. **Philippine Journal of Crop Science**. 41. 12-21.

Park, K., Park, YS, Ahamed, J., Dutta, S., Ryu, H., Lee, SH, et al. (2016). Elicitação da resistência sistêmica induzida da pimenta malagueta por análogos da iturina a derivados de *Bacillus vallismortis* EXTN-1. **Pode. J. Plant Sei.** 96, 564–570. doi: 10.1139 / cjps-2015-0199

PATERNIANI, E. Origin and evolution of the species. Section 1. Evolution of corn. In: Corn in Venezuela. **Fundación Polar**, 2000. p. 15-25.

PEETERS, E., HANS, J. N. COENYE, T. Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. **J. of Microbiological Methods**, v 72, 157 – 165, 2008.

PÉREZ-GARCÍA, A.; ROMERO, D.; VICENTE, A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of *Bacilli* in agriculture. **Current Opinions in Biotechnology**, London, v. 22, p. 187–193, 2011.

PICARD C. BOSCO M. (2003). Genetic diversity of *phl D* gene from 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp. Strains from the maize rhizosphere. **FEMS Microbiol. Lett.** 219, 167–172.

PRASHAR, P., KAPOOR, N., SACHDEVA, S., 2013. Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, 1-15.

PÉREZ-GARCÍA A, ROMERO D E DE VICENTE A. 2011. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of *Bacilli* in agriculture. **Current Opinion in Biotechnology**.

PÉREZ-MONTAÑO F, ALÍAS-VILLEGAS RA, BELLOGÍN RA, DEL CERRO P, ESPUNY MR, JIMÉNEZ-GUERRERO I, LÓPEZ-BAENA FJ, OLLERO FJ E CUBO T. 2014. Plant growth promotion in cereal and leguminous agricultural important plants: From microorganism capacities to crop production. **Microbiological Research**.

PIETERSE CMJ, ZAMIOUDIS C, BERENDSEN RL, WELLER DM, VAN WEES SC E BAKKER PA. 2014. Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. **Annual Review of Phytopathology**, 52:347-375.

PINTO N. F. J. A. 2005. Grãos Ardidos em Milho. **EMBRAPA**. Sete Lagoas, MG p. 1-8.

PORTES D, MARANI R, TORRES B, PANIZZI R & VIEIRA R. 2014. *Fusarium graminearum* and *Fusarium verticillioides* infection on seeds. Scielo.

PRETALI L, BERNARDO L, BUTTERFIEL TS, TREVISAN M & LUCINI L. 2016. Botanical and biological pesticides elicit a similar Induced Systemic Response in tomato (*Solanum lycopersicum*) secondary metabolism. *Phytochemistry*, 130:56-63. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.04.002> Raaijmakers JM and Mazzola M. 2012. Diversity and Natural Functions of Antibiotics Produced by Beneficial and Plant Pathogenic Bacteria. **Annual Reviews of Phytopathology**.

RAMEY, B. E., MATTHYSSE, A. G., & FUQUA, C. (2004). The FNR type transcriptional regulator SinR controls maturation of *Agrobacterium tumefaciens* biofilms. **Molecular microbiology**, 52(5), 1495-1511.

REDDY, N. R. N. & SALLEH, B. Co-occurrence of moulds and mycotoxins in corn grains udes for animal feeds in Malaysia. **Journal of Animal and Veterinary Advances**, (Faisalabad), v 10, p. 668-673, 2011

REEDY, M.S.; RAHE, J.E. Growth effects associated with seed bacterization not correlated with populations of *Bacillus subtilis* inoculant in onion seedling rhizospheres. **Soil Biology and Biochemistry**, v.21, n.3, p.373-378, 1989.

REYES A, RÍCÓN G, LÓPEZ L, MARTÍNEZ ZE E QUIÑONES E. 2015. Fight between microbes: a tool for the control of plant diseases. **University Digital Magazine UNAM**. 16:2-15.

REYES-VELÁZQUEZ, W.P. 2001. Detección del Hongo *Fusarium verticillioides* y de Fumonisinias en Maíz y Efecto de la Nixtamalización sobre la Producción de sus Hidrolizados. Tesis de Doctorado. **Universidad de Guadalajara. Zapopan**, Jalisco, México.

RODRÍGUEZ, D. A. E MONTILLA, J. O. (2002). Reduction of wilt caused by *Fusarium* in tomato with *Citrus paradisi* extract. **Integrated pest management**, 63, 46-50.

RHEEDER, JP; MARASAS, WFO E VISMER, HF (2002), Production of fumonisin analogues by *Fusarium* species. **Applied and Environmental Microbiology**, 68, 2101-2105.

ROJAS-SOLÍS, D., CONTRERAS-PÉREZ, M. & SANTOYO G. 2013. Mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal en bacterias del género *Bacillus*. **Biológicas Diciembre**, 15(2): 36-41.

ROSS, P.F, RICE, L.G, OSWEILER, G.D, NELSON, P.E, RICHARD, J.L & WILSON, T.M. 1992. A review and update of animal toxicoses associated with fumonisin-contaminated feeds and production of fumonisins by *Fusarium* isolates. **Mycopathologia**. 117, 109–114.

RYU C-M, HU C-H, REDDY E MS E KLOEPPER JW. 2003. Different signaling pathways of induced resistance by rhizobacteria in *Arabidopsis thaliana* against two pathovars of *Pseudomonas syringae*. **New Phytologist**.

SANTIAGO, R., CAO A., BUTRÓN A. Review: Genetic Factors Involved in Fumonisin Accumulation in Maize Kernels and Their Implications in Maize Agronomic Management and Breeding. **Toxins**. v. 7. p. 3267-3296. 2015.

SANDOVAL-DENIS M, SWART WJ & CROUS PW. 2018. New *Fusarium* species from the Kruger National Park, South Africa. *MycKeys* 34, 63–92.

SCHRECK S. L. K. 2015. The Domestication and Migration of *Zea mays* L. in Association with Holocene Climatic Variance. **Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirements of Independent Study in Archaeology at The College of Wooster.** p.1-83.

SERRANO, L. E GALINDO, E. (2007). Biological control of phytopathogenic organisms: a multidisciplinary challenge. *Ciencia*, 58, 77-88.

SIPICZKI, M. *Metschnikowia* strains isolated from botrytized grapes antagonize fungal and bacterial growth by iron depletion. *Applied and Environment Microbiology*, Washington, v.70, p. 6716-6724, 2006.

SIDDIQUI, Z., ANTOUN, H., PRÉVOST, D., 2006. Ecology of Plant Growth Promoting Rhizobacteria, **PGPR: Biocontrol and Biofertilization**. Springer Netherlands, pp. 1-38.

SIDDIQUI, Z., ANTOUN, H., PRÉVOST, D., 2006. Ecology of Plant Growth Promoting Rhizobacteria, PGPR: Biocontrol and Biofertilization. **Springer Netherlands**, pp. 1-38.

SINGH UB, MALVIYA D, WASIULLAH, SINGH S, IMRAN M, PATHAK N, ALAM M, RAI JP, SINGH RK, SARMA BK, SHARMA PK & SHARMA AK. 2016. Compatible salt-tolerant rhizosphere microbe-mediated induction of phenylpropanoid cascade and induced systemic responses against *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker causing spot blotch disease in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Applied Soil Ecology*: 108:300-306.

SOLORZANO, C. D.; MALVICK, D. K. Effects of fungicide seed treatments on germination, population, and yield of maize grown from seed infected with fungal pathogens. **Field Crops Research, Amsterdam**, v. 122, n. 1, p. 173-178, 2011.

STADNIK, M. J., ASTOLFI, P., & DE FREITAS, M. B. 2018. Bioestimulantes: una perspectiva global y desafíos para América Latina. in: **II Simpósio Latino-Americano sobre Bioestimulantes na Agricultura e IX Reunião Brasileira sobre Indução de Resistência em Plantas a Patógenos**, 18-21.

STRAHSBURGER, E., RETAMALES, P., ESTRADA, J., & SEEGER, M. 2016. Microdot method: used with chromogenic agar is a useful procedure for sanitary monitoring in aquaculture. **SciELO**. vol.44 no.4 Valparaíso set.

SOUZA Rd, AMBROSINI A & PASSAGLIA LMP. (2015). Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. **Gen Mol Biol** 38:401–419

STEIN, T. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. **Molecular Microbiology, Oxford**, v. 56, p. 845–857, 2005.

STUMPF R, DOS SANTOS J, GOMES LB, SILVA CN, TESSMANN DJ, FERREIRA FD, MACHINSKI JUNIOR M & DEL PONTE EM. 2013. Fusarium species and fumonisins associated with maize kernels produced in Rio Grande do Sul State for the 2008/09 and 2009/10 growing seasons. **Braz. J. Microbiol.** 44, 89–95.

TEJERA-HERNÁNDEZ B, ROJAS-BÁDIA MM E HEYDRICH-PÉREZ M. 2011. Potential of the genus *Bacillus* in the promotion of plant growth and the control of phytopathogenic fungi. **CENIC Biological Sciences Magazine**. 42:131-138.

TORREN, FA. RODRÍGUEZ-MONTESSORO, R; De León, C. 2008. In The cultivation of corn; selected topics. **First Ed. Mundi-Prensa**. 126 p.

TURNER, J.T.; BACKMAN, P.A. Factors relating to peanut yield increases after seed treatment with *Bacillus subtilis*. **Plant Disease**, v.75, n.4, p.347-353, 1991.

VELLUTI, A.; MARIN, S.; BERRUCI, L.; RAMOS, A.J.; SANCHIS, V. The effect of fungal competition of maize grain by *Fusarium moniliforme*, *Fusarium proliferatum* and *Fusarium graminearum* on fumonisin B1 and zearalenone formation. **International Journal of Food Microbiology**, v. 39, p. 39-66, 2000.

VENKATASUBBAIAH, P. Efficacy of *Bacillus subtilis* as a biocontrol for rot of coffee pathogen. **Geobios**, v.12, n.3/4, p.101-104, 1985.

WANG, X., WANG, L., WANG J, JIN P, LIU H E ZHENG Y. 2014. *Bacillus cereus* AR156-Induced Resistance to *Colletotrichum acutatum* Is Associated with Priming of Defense Responses in Loquat Fruit. **PLoS ONE**. 9(11): e112494.

WANG C., RAMETTE A., PUNJASAMARNWONG P., ZALA M., NATSCH A., MOENNE LOCCOZ & DEFAGO G. (2001). Cosmopolitan distribution of phl D-containing dicotyledonous crop-associated biocontrol pseudomonads of worldwide origin. **FEMS Microbiol. Ecol.** 37, 105–116.

WILKE, A.L., BRONSON, C.R., TOMAS, A., MUNKVOLD, G.P., 2007. Seed transmission of *Fusarium verticillioides* in maize plants grown under three different temperature regimes. **Plant Disease** 91 (9), 1109–1115

Wu, G., Liu, Y., Xu, Y., Zhang, G., Shen, Q. e Zhang, R. (2018). Explorando eliciadores do benéfico rhizobacterium *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 para induzir resistência sistêmica em plantas e suas interações com vias de sinalização de plantas. *Mol. Plant Microbe Interact.* 31, 560–567. doi: 10.1094 / MPMI-11-17-0273-R

YADAV O. P., HOSSAIM, F., KARJAGI C.G. Agricultural Research. Genetic Improvement of Maize in India: **Retrospect and Prospects**. v.4, n.4, p. 325-338, 2015.

YATES, I. E. Field performance of maize grown from *Fusarium verticillioides* inoculated seed. *Mycopathologia, Berlin*, v. 159, n. 1, p. 65-73, 2005.

ZHU, J., TAN, T., SHEN, A. *et al.* Potencial de biocontrole de *Bacillus subtilis* IBFCBF-4 contra a murcha de *Fusarium* da melancia. *J Plant Pathol* **102**, 433–441 (2020). <https://doi.org/10.1007/s42161-019-00457-6>