

Controle biológico mediado por *Bacillus subtilis*

Roberto Lanna Filho¹, Henrique Monteiro Ferro¹ e Renata Silva Canuto de Pinho¹

Resumo - O emprego de microrganismos para fins de controle biológico de fitomoléstias vem sendo amplamente estudado no mundo. Neste contexto, o uso de procariotos como bons agentes antagônicos contra fitopatógenos tem se mostrado uma alternativa crescente e inteligente no manejo integrado de doenças. Adicionalmente, muitos estudos vêm sendo realizados com *Bacillus subtilis*, bactéria habitante natural do solo. A bactéria pode colonizar todos os órgãos vegetativos da planta, sendo encontrada como epifítica, endofítica e rizobactéria, confirmando o seu amplo espectro para o uso agrônomo. Assim, esta revisão tem por finalidade levantar as recentes pesquisas sobre *Bacillus subtilis* como bom agente de biocontrole.

Palavras-chave: bactéria epifítica, rizobactéria, bactéria endofítica, indução de resistência, bioproduto.

Biological control mediated by *Bacillus subtilis*

Abstract - The utilization of microorganisms for biological control of plant diseases has been studied in the world. In this context, prokaryotes use good antagonistic agents against pathogens have if shown a growing and intelligent alternative in the integrated management of diseases. Additionally, many studies have been realized with *Bacillus subtilis*, bacterium natural inhabitant of the soil. The bacterium can colonize all of the vegetative organs of the plant, being found as phylloplane resident, endophytic and rhizobacteria, confirming it ample spectrum for the agronomic use. Therefore, this review has for purpose to lift the recent researches with *Bacillus subtilis*, as a good biocontrol agent.

Keywords: epiphytic bacteria, rhizobacteria, endophytic bacteria, induction resistance, bioproduct.

INTRODUÇÃO

No atual estado de arte, o controle biológico por microrganismos apresenta-se como alternativa inteligente para a redução ou eliminação do uso de agroquímicos no controle de fitopatógenos. A diversidade de microrganismos, bem como suas relações antagônicas, surgem como ferramentas importantes para o controle biológico aplicado. Particularmente para bactérias, muitos trabalhos vêm sendo realizados para elucidar as interações entre antagonista-patógeno-hospedeiro (ROMEIRO et al., 2005; HALFELD-VIEIRA et al., 2006; RYAN et al., 2008), com o objetivo de estreitar o entendimento entre a ecologia e os mecanismos de ação que permeiam essas interações.

Os gêneros de bactérias antagonistas de maior prevalência são as *Pseudomonas* do grupo fluorescentes (*P. putida* e *P. fluorescens*), *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. e representantes da família Enterobacteriaceae (CAMPOS SILVA et al., 2008). Em especial, o gênero *Bacillus* spp. se destaca por formar endósporo e apresentar uma multiplicidade de mecanismos antagônicos. Possibilitando dessa forma, a sua longa manutenção e sobrevivência em nichos ecológicos específicos, com grande versatilidade nos mecanismos de ação para driblar as defesas dos fitopatógenos.

No tocante à espécie *B. subtilis*, a mesma mostra-se como excelente agente de biocontrole, podendo ser encontrado como PGPR (rizobactérias promotoras de crescimento em plantas), bactérias epifíticas e endofíticas (GUPTA et al., 2000; ONGENA et al., 2005). Com isso, esta revisão tem por objetivo discutir as possibilidades do uso do *B. subtilis* como agente de biocontrole em doenças agrônomicas.

REVISÃO DE LITERATURA

Ecologia de *Bacillus subtilis*

No contexto ecológico, populações de *B. subtilis* têm como habitat natural o solo, o mesmo que abriga uma complexa comunidade biológica, da qual microrganismos procariotos e eucariotos

Recebido em 11 de abril de 2010, aceito em 06 de julho

¹ Universidade Federal de Lavras (UFLA), Departamento de Fitopatologia, CEP 37200-000 Lavras, MG, Brasil, E-mail: robertolanna@yahoo.com.br.

constituem maioria, tanto em número quanto em diversidade. No entanto, aquele procarioto pode ocupar nichos ecológicos distintos em associação com plantas, estabelecendo-se na rizosfera, rizoplane, filoplane e nos tecidos internos, onde se multiplicam, sobrevivem e se protegem da ação antagonística do restante da microflora autóctone (ONGENA et al., 2005; CAMPOS SILVA et al., 2008).

De forma geral, condições desfavoráveis, a exemplo de variações drásticas dos parâmetros físico-químicos do meio circundante (temperatura, osmolaridade ou a disponibilidade de fontes de carbono), condicionam a célula bacteriana a entrar em estágio de letargia, de crescimento lento ou de fase estacionária. Neste caso, as células ensaiam respostas adaptativas que vão desde o desenvolvimento de motilidade ou competência para a transformação genética por DNA exógeno, e até mesmo a produção de antibióticos ou de enzimas degradativas extracelulares (STRAGIER & LOSICK, 1996). Em se tratando da escassez de nutrientes, as células se dispõem de informações sensoriais que as direcionam para a formação de endósporo (Figura 1), o que ocasiona a paralisação do ciclo de crescimento e divisão celular.

O endósporo é extremamente resistente a agressões exógenas, podendo permanecer intacto por milhões de anos (CANO et al., 1995). Sendo, portanto, muito importante para a sobrevivência das populações de *B. subtilis* (STRAGIER & LOSICK, 1996; HENRIQUES et al., 2000), quando estas são expostas a condições ambientais desfavoráveis.

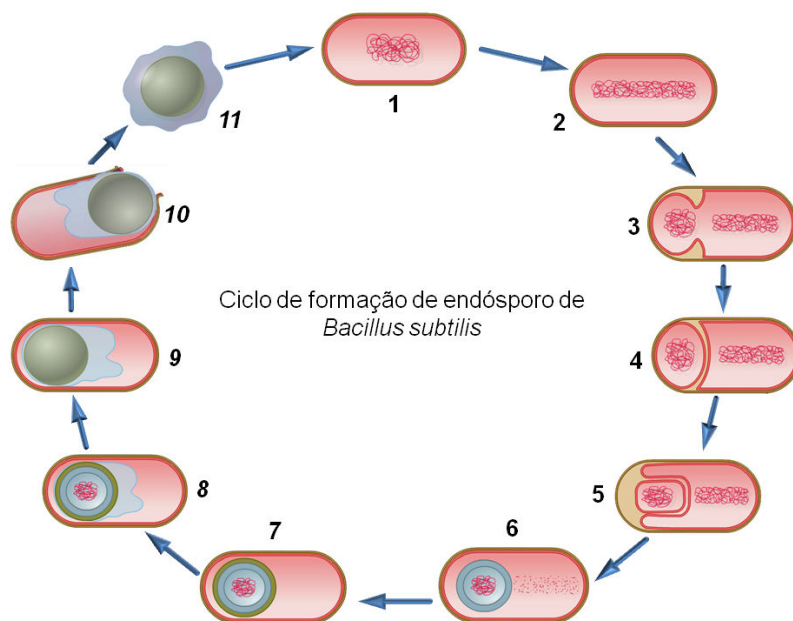


Figura 1. Representação esquemática da formação de endósporo em uma célula da bactéria *B. subtilis* quando as condições nutricionais são limitantes. 1) Célula em condições normais; 2) Condensação e alinhamento do DNA no centro da célula; 3) Invaginação celular e início da divisão do DNA em dois componentes; 4) Separação do DNA em dois componentes e formação do pré-endósporo; 5) Crescimento da porção maior da célula que engolfa o pré-endósporo; 6) Envolvimento do pré-endósporo por duas camadas de membrana e degradação do DNA; 7) Formação externa de um revestimento protéico e maturação do endósporo; 8) Formação de uma camada adicional denominada de exospórica; 9) Endósporo maduro, resistente às condições ambientais; 10) Destruição da célula bacteriana por enzimas líticas e liberação do endósporo e 11) Endósporo maduro.

***Bacillus subtilis* como agente de biocontrole**

Bacillus subtilis tem sido usado comercialmente para o biocontrole de enfermidades de plantas, assim como para aumentar a produtividade de culturas (NGUGIA et al., 2005; YAO et al., 2006).

Como e porque esse biocontrole é exercido é ainda um tema que carece de maiores estudos.

O efeito *in situ* pela exposição de células vivas de *B. subtilis* pode ocasionar a promoção de crescimento e/ou o biocontrole (HAMMAMI et al., 2009). Este último podendo ser de natureza direta ou indireta (RYU et al., 2004; ONGENA et al., 2007; LEELASUPHAKUL et al., 2008). O antagonismo direto exercido contra fitopatógenos tem o envolvimento dos conhecidos mecanismos de antibiose, como a síntese de substâncias antimicrobianas, a competição por espaço e nutrientes e a síntese de compostos voláteis (LEELASUPHAKUL et al., 2008). O mecanismo indireto é exercido pelo fenômeno de resistência sistêmica induzida (ISR) (Figura 2).

Em face às putativas vantagens proporcionadas pelo uso de *B. subtilis* em plantas, alguns bioformulados levam em sua rotulagem a característica de amplo espectro contra fitopatógenos, além do efeito adicional de promotor de crescimento.

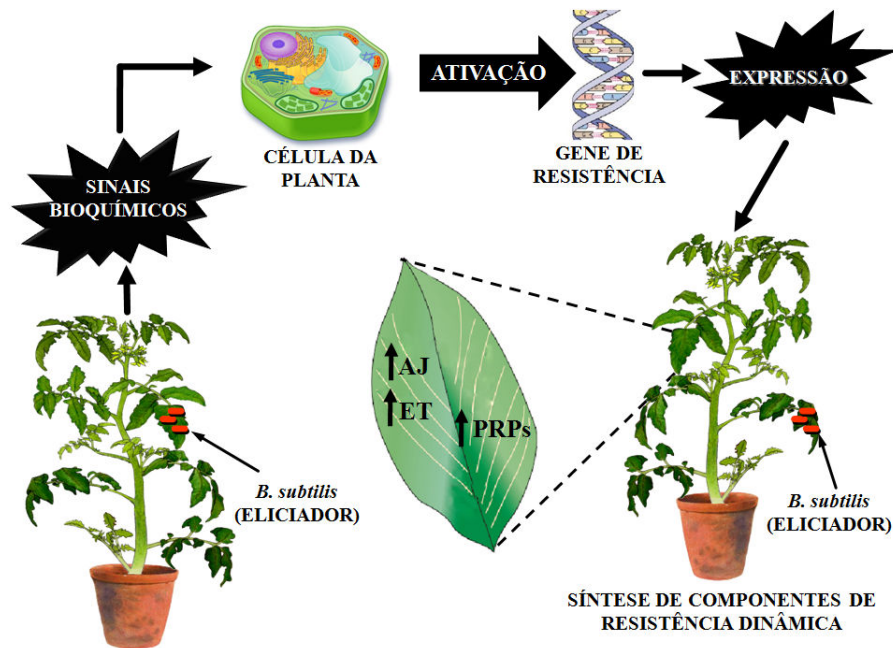


Figura 2. Diagrama esquemático do fenômeno de resistência sistêmica induzida (ISR), ocasionada pelo agente de biocontrole *B. subtilis*. Este ao entrar em contato com o tecido da planta incita a geração de sinais bioquímicos celulares, que estimulam o aumento da concentração de ácido jasmônico (AJ) e etileno (ET). Em seguida, ocorre a transcrição de genes de defesa responsáveis pela expressão de proteínas relacionadas à patogênese (PRPs).

O fenômeno de resistência sistêmica induzida (ISR)

A resistência natural de plantas constitui-se na habilidade de prevenir ou retardar o estabelecimento dos microrganismos fitopatogênicos em seus tecidos, num processo altamente dinâmico, coordenado e dependente da existência de mecanismos constitutivos e/ou, pós-formados (KIRALY et al., 1997; ALVES, 2007). As defesas pós-formadas podem ser acionadas por exposição a agentes indutores, que funcionam como eliciadores da resposta de defesa (CHOUDHARY et al., 2007). Dos mecanismos bioquímicos pós-formados, dois se destacam por apresentarem amplo espectro de ação, a resistência sistêmica adquirida (SAR) e a resistência sistêmica induzida (ISR), que podem ser ativadas por microrganismos (PIETERSE & VAN LOON, 2004; CHOUDHARY et al., 2007). Ambas são reguladas pela proteína NPR1, onde se cruzam na rota de sinalização (Figura 3) (PIETERSE & VAN LOON, 2004; CHOUDHARY et al., 2007). No entanto, as rotas de sinalização são distintas, pois SAR é governada pela rota do ácido salicílico (AS) e ISR pela rota do ácido jasmônico (JA) e etileno (ET).

Pela ótica da resistência sistêmica, a ISR pode ser ativada por agentes de biocontrole e/ou

substâncias sintetizadas pelos mesmos, desempenhando amplo espectro de ação contra patógenos (PIETERSE & VAN LOON, 2004; ROMEIRO, et al., 2005). Neste contexto, moléculas sintetizadas por *B. subtilis* podem atuar como eliciadoras da ISR, proporcionando a sistemicidade da resposta de defesa contra patógenos (RYU et al., 2004; ONGENA et al., 2007). Como exemplo, ONGENA et al. (2007) estudaram a síntese de lipopeptídeos da família das surfactinas e fengicinas, pelo isolado 168 de *B. subtilis*, que atuava no processo de ativação da ISR em plantas de feijão e tomate. Isso abre possibilidades para a investigação de novas moléculas, ou de um complexo, que estejam envolvidos na expressão de genes de defesa em plantas.

É salutar destacarmos que compostos voláteis também podem levar a planta ao “estado de indução”. Isso foi observado em plantas de *Arabidopsis* expostas a compostos voláteis sintetizados pelo isolado GB03 de *B. subtilis*, contra o patógeno *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* (RYU et al., 2004). Isso nos permite ampliar as pesquisas com substâncias voláteis, sintetizadas por bactérias antagonicas envolvidas que desencadeiam a ISR.

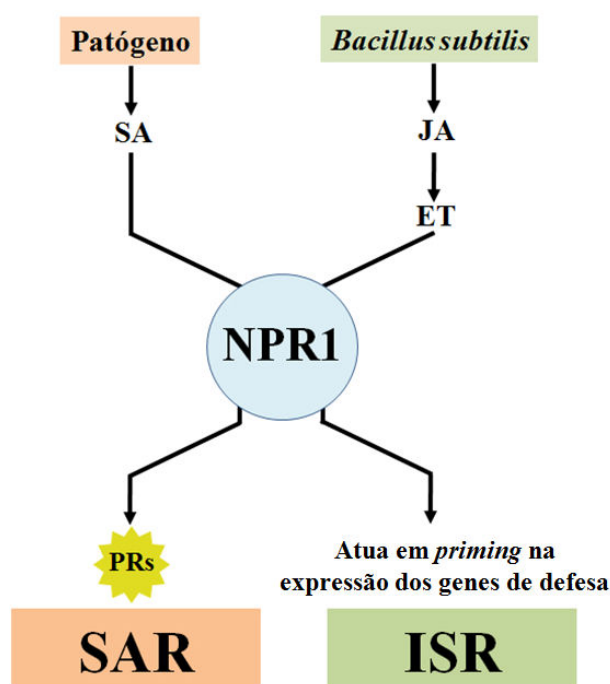


Figura 3. Representação esquemática das rotas de sinalização desencadeada por patógenos e *B. subtilis* ou agentes de biocontrole. O patógeno atua desencadeando a biossíntese do ácido salicílico (AS), que irá promover a resistência sistêmica adquirida (SAR). Em contra partida, a bactéria inicia a biossíntese de ácido jasmônico (JA) e etileno (ET) que irá promover a resistência sistêmica induzida (ISR). Ambas as rotas de sinalização são governadas pela proteína NPR1.

Síntese de metabólitos

Bactérias antagonicas, como *B. subtilis*, de modo geral agem significativamente por antibiose e, ocasionalmente, por parasitismo e competição. Microrganismos que agem por antibiose, geralmente têm amplo espectro de ação, de forma que na inibição dos fungos a produção de substâncias tóxicas é mais efetiva do que qualquer outro mecanismo de ação envolvido (KUPPER et al., 2003).

Isolados de *B. subtilis* produzem uma grande variedade de metabólitos antifúngicos, entre os quais se encontram lipopeptídeos das famílias da surfactina, iturina e fengicina. Estes peptídeos são compostos cíclicos de sete ou dez α -aminoácidos ligados a um único β -amino (iturinas) ou β -hidroxi (surfactinas e fengicinas) ácido graxo. O comprimento desta cadeia de ácidos graxos pode variar de C13 a C16 para surfactinas, de C14 a C17 para iturinas e de C14 a C18, no caso de

fengicinas (ONGENA et al., 2005).

Embora estruturalmente semelhantes, surfactinas, iturinas e fengicinas diferem em alguns aspectos biológicos em relação à sua atividade. Como exemplo, iturinas e fengicinas exibem uma forte atividade antifúngica e são inibitórios para o crescimento de uma ampla gama de fitopatógenos. No tocante a surfactinas, as mesmas não são *per se* fungitóxicas, mas exercem algum efeito sinérgico antifúngico, quando em companhia da iturina A (MAGET-DANA et al., 1992). Em se tratando de fitobactérias, as surfactinas apresentam baixas propriedades antibacterianas, caso contrário, observado para iturinas que podem exercer papel inibitório sob bactérias Gram-positivas.

BAIS et al. (2004) visando determinar o papel da surfactina no biocontrole de *Pseudomonas syringae* em *Arabidopsis* por *B. subtilis*, testaram uma estirpe mutante, M1, com uma deleção do gene surfactina sintase e, portanto, deficiente na produção de surfactina. O *B. subtilis* M1 foi ineficaz como agente de biocontrole e também ineficiente na formação de biofilme na superfície das raízes. Com base nessas observações os autores aferiram que a atividade antagonista, bem como, a capacidade de formar biofilme está diretamente envolvida com a síntese de surfactina.

Dados recentes revelam que *B. subtilis* é capaz de produzir substâncias voláteis com atividade antifúngica. No entanto, muitas dessas substâncias voláteis produzidas por este microrganismo são ainda desconhecidas (KAI et al. 2007). CHEN et al. (2008) encontraram 14 compostos voláteis de *B. subtilis*, identificados através da cromatografia gasosa de espectro de massa (CG-MS), com aparente fonte de compostos bioativos. A natureza antifúngica de alguns dos compostos, tais como 2-etil-hexanol, 2,4-bis (2-metilpropil)fenol, 4-hidroxibenzaldeído e 2-nonanona, foi também demonstrada em outros patossistemas (WANG et al. 2004, ALMENAR et al. 2007).

Promoção de crescimento em plantas

A promoção de crescimento ocasionada por *B. subtilis* é consequência do aumento da fixação de nitrogênio, solubilização de nutrientes, síntese de fitormônios e melhoria das condições do solo. Além dos benefícios indiretos pela supressão deste ambiente contra microrganismos maléficos (MANJULA & PODILE, 2005). Adicionalmente, a associação benéfica proporciona o aumento fisiológico de metabólitos que desencadeiam a sensibilidade do sistema radicular as condições externas, proporcionando a facilitação da percepção e absorção de nutrientes (MANJULA & PODILE, 2005). Isolados de *B. subtilis* também têm a capacidade de conduzir a regulação hormonal de plantas, como relatado por TSAVKELOVA et al. (2006) e PERSELLO-CARTIEAUX et al. (2003), governando assim, o controle do crescimento radicular pela síntese de auxina, giberelina e citocinina.

A promoção de crescimento, proporcionada por *B. subtilis*, pode levar a semente à rápida germinação. Isso foi constatado em estudos realizados por MANJULA & PODILE (2005), estes trataram sementes de feijão guandu com formulação a base de *B. subtilis* AF1 em turfa suplementada com quitina. Assim verificaram que houve um aumento da emergência e peso seco das mudas de 29 a 33%. Em estudo conduzido por ARAUJO (2008), sementes de algodão, milho e soja expostas ao tratamento com bioformulado a base de *B. subtilis* PRBS1 tiveram incremento na emergência das plântulas. Desta maneira, é salutar que o rápido desenvolvimento da plântula condiciona a mesma a alcançar mais rapidamente o estágio adulto, permanecendo menos tempo no campo, o que favorece o escape contra patógenos presentes no solo e no ambiente externo. Além disso, promove maior resistência a condições abióticas adversas por apresentar-se nutricionalmente balanceada.

O sucesso do *B. subtilis* na promoção de crescimento de plantas está intrinsecamente relacionada com as características biológicas deste microrganismo, que apresenta facilidades para a manutenção de sua viabilidade em bioformulados. Assim, a potencialidade para o incremento da produtividade, bem como a redução de doenças, tem se tornado evidente para essa espécie de *Bacillus*. Haja vista, os inúmeros trabalhos para se chegar à luz dos mecanismos benéficos como promoção de

crecimento e biocontrole.

Produtos comerciais

As pesquisas com biocontrole de microrganismos, em especial procariotos, são relativamente recentes. A primeira bactéria, *Agrobacterium radiobacter* isolado K84, foi registrada na *U. S. Environmental Protection Agency* (USEPA) para o controle da galha-da-coroa em 1979 (FRAVEL, 2005). Atualmente, 14 bactérias e 12 fungos são registrados na USEPA para o controle das enfermidades em plantas. A maioria destes microrganismos são atualmente comercializados em bioprodutos. Neste contexto, inúmeros bioprodutos comerciais a base de *B. subtilis* estão registrados pela USEPA (Tabela 1), sendo indicados para diversas culturas, tais como: algodão, tomate, soja, amendoim, milho hortaliças, culturas produtoras de grãos e etc. Apesar disso, no Brasil ainda não há nenhum produto comercialmente registrado com *B. subtilis*. Mas, o produto comercial Serenade® da Agraquest encontra-se em fase de registro para sua comercialização no Brasil.

Tabela 1. Produtos a base de *Bacillus subtilis* registrados pela *Environmental Protection Agency*.

Microrganismo	Produtos
<i>B. subtilis</i> GB03	Kodiak - Concentrate biological fungicide Companion Dry - Concentrate biological fungicide Kodiak - Flowable biological fungicide Kodiak - HB Biological fungicide Companion
<i>B. subtilis</i> MBI 600	Premier Pro Mix with Biofungicide Subtilex - Biological fungicide Histick N/T Subtilex L – Biological fungicide
<i>B. subtilis</i> QST 713	Rhapsody AS Serenade (R) Max (TM) Serenade AS Serenade ASO Serenade – Biofungicide wettable powder Serenade Garden Serenade Rhapsody AS0
<i>B. subtilis</i> FZB24	Taegro Tae-Technical

Embora a busca por alternativas para o controle das fitomoléstias esteja em franca ascensão, há muitos entraves para que o produto final chegue ao consumidor, devido a problemas burocráticos e

legislativos. No entanto, vem ocorrendo um aumento na participação de empresas com interesse de produzir e comercializar produtos advindos de microrganismos que respeitem o meio ambiente, a saúde humana e dos animais.

CONCLUSÕES

Atualmente, estudos importantes têm mostrado o uso de *B. subtilis* como agente de biocontrole e, ou, promotor de crescimento em plantas. A capacidade de ocupar eficientemente nichos distintos e apresentar uma notória versatilidade fisiológica, o faz bactéria impar para estudos futuros. Com os avanços nos estudos dos metabólicos a caracterização de substâncias com potenciais agronômicos podem nos trazer a luz do entendimento das interações *B. subtilis*-planta, calcado na formulação de bioprodutos eficientes no controle de doenças ou crescimento de plantas. Assim, obtendo-se formulados mais estáveis, com maior viabilidade para uso.

Notadamente, a presente revisão apresentou algumas características que envolvem essa espécie de *Bacillus*. no controle de doenças, bem como, na promoção de crescimento em plantas. Atualmente, bioprodutos a base de *B. subtilis* mostram-se efetivos na redução de enfermidades no campo, além de menos agressivos ao meio ambiente. Assim, pautando na principal tendência mundial, que visa estudos com microrganismos no controle de doenças, almejando a redução drástica de produtos químicos que causam distúrbios ambientais importantes.

REFERÊNCIAS

- ALMENAR, E.; VALLE, V.D.; CATALLA, R.; GAVARA, R. Active package for wild strawberry fruit (*Fragaria vesca* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.2240–2245, 2007.
- ALVES, E. Mecanismos estruturais na resistência de plantas a patógenos. **Summa Phytopathologica**, v.33, p.154-156, 2007.
- ARAUJO, F.F. Inoculação de sementes com *Bacillus subtilis*, formulado com farinha de ostras e desenvolvimento de milho, soja e algodão. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.456-462, 2008.
- BAIS, H.P.; FALL, R.; VIVANCO, J.M. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of *Arabidopsis* roots by *Pseudomonas syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. **Plant Physiology**, v.134, p.307–319, 2004.
- CAMPOS SILVA, J.R.; SOUZA, R.M.; ZACARONE, A.B.; SILVA, L.H.C.P.; CASTRO, A.M.S. Bactérias endofíticas no controle e inibição *in vitro* de *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, agente da pinta bacteriana do tomateiro. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, p.1062-1072, 2008.
- CANO, R.J.; BORUCKI, M.K. Revival and Identification of Bacterial Spores in 25- to 40-Million-Year-Old Dominican Amber. **Science**, v.268, p. 1060-1064, 1995.
- CHEN, H.; XIAO, X.; WANG, J.; WU, L.; ZHENG, Z.; YU, Z. Antagonistic effects of volatiles generated by *Bacillus subtilis* on spore germination and hyphal growth of the plant pathogen, *Botrytis cinerea*. **Biotechnology Letters**, v.30, p.919–923, 2008.
- CHOUDHARY, D.K.; PRAKASH, A.; JOHRI, B.N. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. **Indian Journal of Microbiology**, v.47, p.289-297, 2007.
- FRAVEL, D.R. Commercialization and implementation of biocontrol. **Annual Reviews Phytopathology**, v.43, p.337-359, 2005.
- GUPTA, V.P.; BOCHOW, H.; DOLEJ, S.; FISCHER, I. Plant growth-promoting *Bacillus subtilis* strain as potential inducer of systemic resistance in tomato against *Fusarium* wilt. **Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz**, v.107, p.145-154, 2000.
- HALFELD-VIEIRA, B.A.; VIEIRA, J.R.; ROMEIRO, R.S.; SILVA, H.S.A.; BARACAT-PEREIRA, M.C. Induction of systemic resistance in tomato by the autochthonous phylloplane

resident *Bacillus cereus*. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v.41, p.1247-1252, 2006.

HAMMAMI, I.; RHOUMA, A.; JAOUADI, B.; REBAI, A.; NESME, X. Optimization and biochemical characterization of a bacteriocin from a newly isolated *Bacillus subtilis* strain 14B for biocontrol of *Agrobacterium* spp. strains. **Letters in Applied Microbiology**, v.48, p.253–260, 2009.

HENRIQUES, A.O.; MORAN JUNIOR, C.P. Structure and assembly of the bacterial endospore coat. **Methods**, v.20, p.95-110, 2000.

KAI, M.; EFFMERT, U.; BERG, G.; PIECHULLA, B. Volatiles of bacterial antagonists inhibit mycelial growth of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*. **Archives of Microbiology**, v.187, p.351–360, 2007.

KIRALY, Z.; HORNOK, L. Molecular aspects of plant-pathogen interactions in relation to novel strategies of breeding for disease resistance. **Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica**, v.32, p.1-28, 1997.

KUPPER, K.C.; GIMENES-FERNANDES, N.; GOES, A. de. Controle biológico de *Colletotrichum acutatum*, agente causal da queda prematura dos frutos cítricos. **Fitopatologia Brasileira**, v. 28, p.251-257, 2003.

LEELASUPHAKUL, W. et al. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. Postharvest. **Biology and Technology**, v.48, p.113-121, 2008.

MAGET-DANA, R.; THIMON, L.; PEYPOUX, F.; PTAK, M. Surfactin/Iturin A interactions may explain the synergistic effect of surfactin on the biological properties of iturin A. **Biochimie**, v.74, p.1047–1051, 1992.

MANJULA, K.; PODILE, A.R.. Increase in seedling emergence and dry weight of pigeon pea in the field with chitin-supplemented formulations of *Bacillus subtilis* AF 1. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v.21, p.1057–1062, 2005.

NGUGIA, H.K.; DEDEJB, S.; DELAPLANEB, K.S.; SAVELLEA, A.T.; SCHERMA, H. Effect of flower-applied Serenade biofungicide (*Bacillus subtilis*) on pollination-related variables in rabbiteye blueberry. **Biological Control**, v.33, p.32-38, 2005.

ONGENA, M.; DUBY, F.; JOURDAN, E.; BEAUDRY, T.; JADIN, V.; DOMMES, J.; THONART, P. *Bacillus subtilis* M4 decreases plant susceptibility towards fungal pathogens by increasing host resistance associated with differential gene expression. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.67, 692-698 . 2005

ONGENA, M.; JOURDAN, E.; ADAM, A.; PAQUOT, M.; BRANS, A.; JORIS, B.; ARPIGNY, J.-L.; THONART, P. Surfactin and fengycin lipopeptides of *Bacillus subtilis* as elicitors of induced systemic resistance in plants. **Environmental Microbiology**, v.9, p.1084-1090, 2007.

PERSELLO-CARTIEAUX, F.; NUSSAUME L.; ROBAGLIA, C. Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions. **Plant Cell and Environment**, v.26, p.186–199, 2003.

PIETERSE, C.M.J.; VAN LOON, L.C. NPR1: the spider in the web of induced resistance signaling. **Current Opinion in Plant Biology**, v.7, p.456-464, 2004.

ROMEIRO, R.S.; LANNA-FILHO, R.; VIEIRA, J.R.; SILVA, H.S.A.; BARACAT-PEREIRA, M.C.; CARVALHO, M.G. Macromolecules released by a plant growth-promoting rhizobacterium as elicitors of systemic resistance in tomato to bacterial and fungal pathogens. **Journal of Phytopathology**, v.153, p.120-123. 2005.

RYAN, R.P.; GERMAINE, K.; FRANKS, A.; RYAN, D.J.; DOWLING, D.N. Bacterial endophytes: recent developments and applications. **FEMS Microbiology Letters**, v.278, p.1-9,

2008.

RYU, C.M.; FARAG, M.A.; HU, C.-H.; REDDY, M.S.; KLOEPPER, J.W.; PARÉ, P.W. Bacterial Volatiles Induce Systemic Resistance in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, v.134, p.1017–1026, 2004.

STRAGIER, P.; LOSICK, R.. Molecular genetics of sporulation in *Bacillus subtilis*. **Annual Reviews of Genetics**, v.30, p.297-341, 1996.

TSAVKELOVA, E.A.; KLIMOVA, S. Y.; CHERDYNTSEVA, T. A.; NETRUSOV, A. I. Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v.42, p.117–126, 2006.

WANG, J. LIU, J.; WANG, X.; YAO, J.; YU, Z. Application of electrospray ionization mass spectrometry in rapid typing of fengycin homologues produced by *Bacillus subtilis*. **Letters in Applied Microbiology**, v.39, p.98–102, 2004.

YAO, A.; BOCHOW, H.; KARIMOV, S.; BOTUROV, U.; SANGINBOY, S.; SHARIPOV, A. EFFECT OF FZB 24[®] *Bacillus subtilis* as a biofertilizer on cotton yields in field tests. **Archives of Phytopathology and Plant Protection**, v.39, p.323-328, 2006.