

Análise in vitro do potencial de bactéria do gênero *Streptomyces* no biocontrole de fitopatógenos de interesse agrícola

Mendes, Valdir da Costa¹; Queiroz, Claudia Afras de Queiroz³; Costa, Gerodes Vasconcelos¹; Baia, Frankyrley Laison Jesus¹; Bandeira, Izabel Correa²; Sousa, Thiago Fernandes²; Silva, Gilvan Ferreira³

¹Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, ²Universidade Federal do Amazonas, ³Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária.

Email: gilvan.silva@embrapa.br

Resumo

O uso de produtos químicos nos campos agrícolas vem sendo utilizado há muito tempo no intuito de controlar os prejuízos causados por pragas como, insetos e microrganismos fitopatogênicos, porém, devido a efeitos nocivos à saúde humana e ao meio ambiente, novas tecnologias vêm sendo criadas para substituição desses químicos. O controle biológico torna-se uma opção para esta mudança, pois também funciona como controlador, porém sem a utilização dos compostos químicos. Podemos citar como os principais agentes de biocontrole os microrganismos, mais especificamente, fungos e bactérias, dentre as mais variadas espécies utilizadas, existe as bactérias do gênero *Streptomyces*, estas, quando associados à planta hospedeira, podem produzir antibióticos, sideróforos e enzimas com ação antimicrobiana. Com isto, o objetivo deste trabalho foi testar *in vitro* o potencial de uma espécie do gênero *Streptomyces* (MPUR 42.5) no controle de fitopatógenos de interesse agrícola. Utilizando como método o antagonismo para a verificação de antibiose, os testes foram realizados em triplicata utilizando 15 espécies de fitopatógenos da coleção da Embrapa Amazônia Ocidental/Laboratório de Genômica e Microbiologia Aplicada da Amazônia. Como principais resultados, o isolado se mostrou eficiente no controle de alguns patógenos, como contra o *Colletotrichum guaranicolla* (INPA 2939) que agride as folhas do guaraná (89,1% de inibição). Como resultados menos significativos, podemos citar o *Fusarium sp.* (Embrapa MCT 10621), causador da murcha nos frutos do tomateiro com apenas 3,1% de inibição. As porcentagens de inibição do crescimento dos fitopatógenos sob a ação do isolado variou de 0 a 89,1%. Os resultados dos testes se mostraram favoráveis para futuros ensaios *in vivo*, principalmente com os hospedeiros de guaranazeiro.

Palavras-Chave: Antagonismo; Inibição; Antracnose

Introdução

Atualmente, o uso de compostos químicos de alto e médio risco, é a alternativa mais utilizada pelo setor agrícola para diminuir a ocorrência de patógenos de plantas.

Contudo, o uso intensivo desses produtos vem causando problemas ambientais e à saúde humana (Ferreira et al. 2020; Hess et al. 2021).

Estes defensivos representam um alto custo para o produtor, e estão associados aos riscos de contaminação do meio ambiente, isto porque, resíduos destes produtos podem se depositar sobre o solo, lençóis freáticos e cursos d'água. Vale ressaltar ainda que a dosagem incorreta e uso contínuo favorece a seleção de patógenos resistentes (Yadav et al. 2017; Botelho et al. 2020).

Como estratégia para reduzir os efeitos negativos do uso dos defensivos químicos tem-se investido em produtos de origem biológica, sendo este, um método de controle de pragas e doenças ambientalmente mais seguro e sustentável (Carmona-Hernandez et al. 2019). Os principais agentes de controle biológico são os microrganismos, mais especificamente, fungos e bactérias.

Dentro da grande diversidade destes microrganismos, o gênero bacteriano *Streptomyces* vem sendo estudado para esta aplicação por possuir potencial para produção de antibióticos e outros compostos terapêuticamente úteis (Law et al. 2020). Chamados de "biofábricas de novas enzimas", os compostos químicos sintetizados por este gênero, fazem com que a investigação de novas moléculas promissoras seja ainda mais intensificada (Vaijyanthi et al. 2016).

Com isso, bactérias do gênero *Streptomyces* são alternativas favoráveis para utilização de biocontrole em grandes e pequenas culturas agrícolas. O presente estudo tem portanto, como objetivo, avaliar *in vitro* o potencial do isolado *Streptomyces* MPUR 42.5 no controle de fungos fitopatogênicos de interesse agrícola.

Material e Métodos

Foram utilizados nos testes de antagonismo o isolado de *Streptomyces* MPUR 42.5, coletado em sedimentos da foz dos rios Purus. Este isolado faz parte da coleção biológica do Laboratório de Genômica e Microbiologia Aplicada da Amazônia Legal da Embrapa Amazônia Ocidental-CPAA, com acesso ao patrimônio genético autorizado pelo SISGEN N° AB6B14F.

Os testes de antagonismo do isolado foi realizado utilizando 15 fungos fitopatogênicos (Tabela 1), seguindo os métodos descritos por Anith et al.

(2021). No centro de placas de Petri contendo meio de cultura BDA (Batata Dextrose Ágar) foram depositados um discos miceliais dos fitopatógenos de 5mm com 5 dias de idade. Após isso, o isolado foi inoculado paralelamente entre si a uma distância de 3 cm do centro da placa (Figura 1), como controle, foram utilizadas placas inoculadas apenas com o fitopatógeno. As placas foram armazenadas em estufa incubadora BOD a 28 °C por 15 dias, o ensaio foi realizado em triplicata.

Os resultados foram avaliados em 5, 10 e 15 dias após o início do experimento. A percentagem de inibição foi avaliada de acordo com a fórmula abaixo:

$$\% \text{inibição} = \frac{\text{diâmetro médio do controle} - \text{diâmetro médio do tratamento}}{\text{diâmetro médio do controle}} \times 100$$

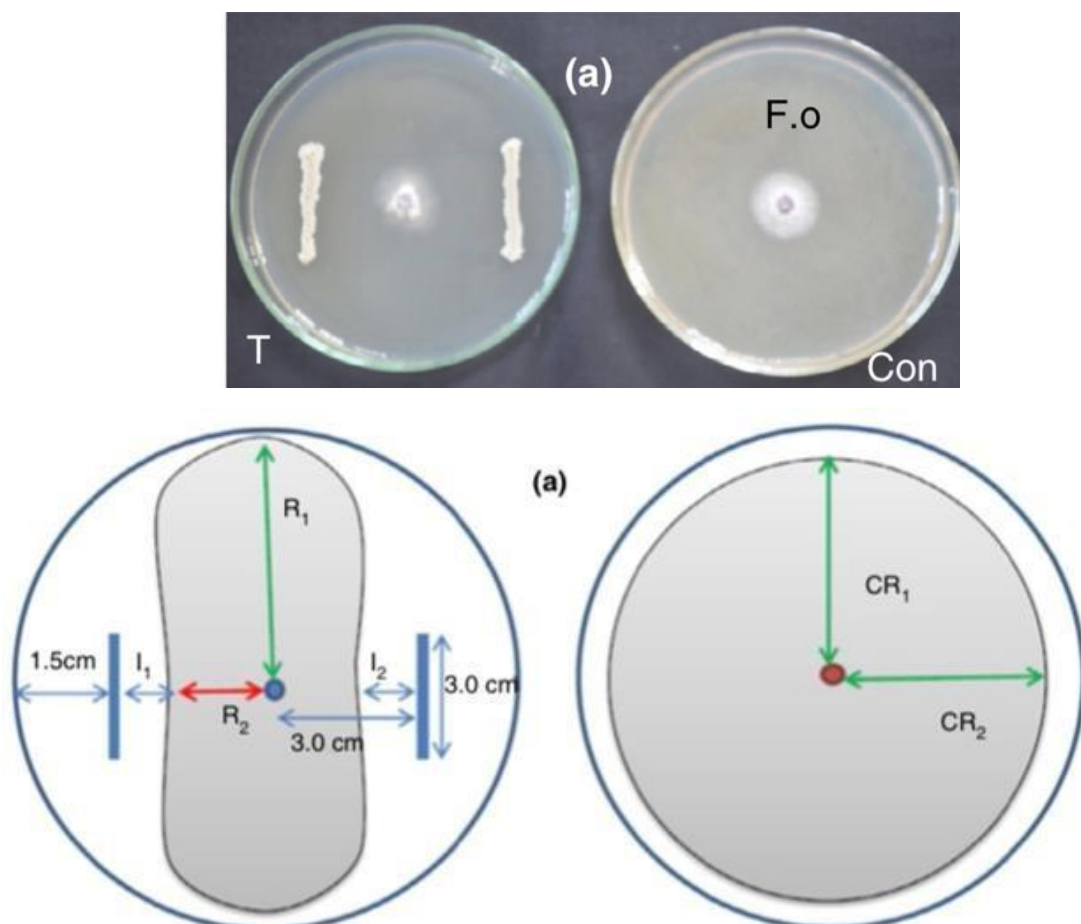


Figura 1. Representação de ensaio de placa de cultura dupla para verificação de antagonismo *in vitro* (Anith et al 2021).

Resultados e Discussão

Os resultados dos testes de antagonismo da linhagem MPUR 42.5 contra os 15 fitopatógenos variaram de 0% a 89,1% de inibição (Tabela 1). Tendo como dados mais significativos, observa-se os resultados contra: *Corynespora cassiicola* (50%); *Colletotrichum* sp. (57,9%); *Colletotrichum spaethianum* (58,75%); *Colletotrichum scovillei* (65,4%); *Neopestalotiopsis formicidarum* (78,3%); e *Colletotrichum guaranicola* (89,1%).

Tabela 1. Resultados da percentagem de inibição do crescimento micelial dos fitopatógenos.

Nº	Código da Coleção	Fitopatógeno	Hospedeiro	% inibição
1	Embrapa 609	<i>Neopestalotiopsis formicarum</i>	Guaranazeiro (folhas)	0
2	INPA 2943	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Alfac ^e	0
3	Embrapa MCT 10621	<i>Fusarium</i> sp.	Tomate (fruto)	3,1
4	INPA 2941	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Tomate (fruto)	6,2
5	INPA 1809	<i>Colletotrichum theobromicola</i>	Cebolinha	23,3
6	Coll 2n	<i>Colletotrichum siamense</i>	<i>Synedrella nodiflora</i>	32
7	INPA 2942	<i>Rhizoctonia</i> sp.	Feijão	35,4
8	Embrapa Fdc 307	<i>Fusarium decemcellulare</i>	Guaranazeiro	36,25
9	Embrapa Mp01	<i>Moniliophthora perniciosa</i>	<i>Theobroma grandiflorum</i>	44,7
10	INPA 2671	<i>Corynespora cassiicola</i>	Tomate (folha)	50
11	INPA 2973	<i>Colletotrichum</i> sp.	Mamão (fruto)	57,9
12	INPA 2908	<i>Colletotrichum spaethianum</i>	Cebolinha	58,75
13	INPA 2910	<i>Colletotrichum scovillei</i>	Pimenta do reino (fruto)	65,4
14	Embrapa 2917	<i>Neopestalotiopsis formicidarum</i>	Guaranazeiro (folhas)	78,3
15	INPA 2939	<i>Colletotrichum guaranicola</i>	Guaranazeiro (folhas)	89,1

O estudo realizado por Liotti et al. (2019) avaliou o potencial antagonista da linhagem *Streptomyces griseocarneus* R132 frente a 11 fitopatógenos, onde seu melhor resultado foi na inibição do crescimento micelial do fungo *Colletotrichum guaranicola* (70,77% de inibição). No presente estudo, o valor de inibição se mostrou mais eficiente contra o mesmo fitopatógeno (89,1% de inibição), o que indica que o gênero *Streptomyces*, incluindo o isolado MPUR 42.5 possui eficiência no biocontrole *in vitro* do fitopatógeno do guaranazeiro.

Na Figura 2, é possível observar a diferença nas placas dos dois estudos com o fitopatógeno. Vale ressaltar que embora os fungos pertençam a mesma espécie, eles não são da mesma linhagem.

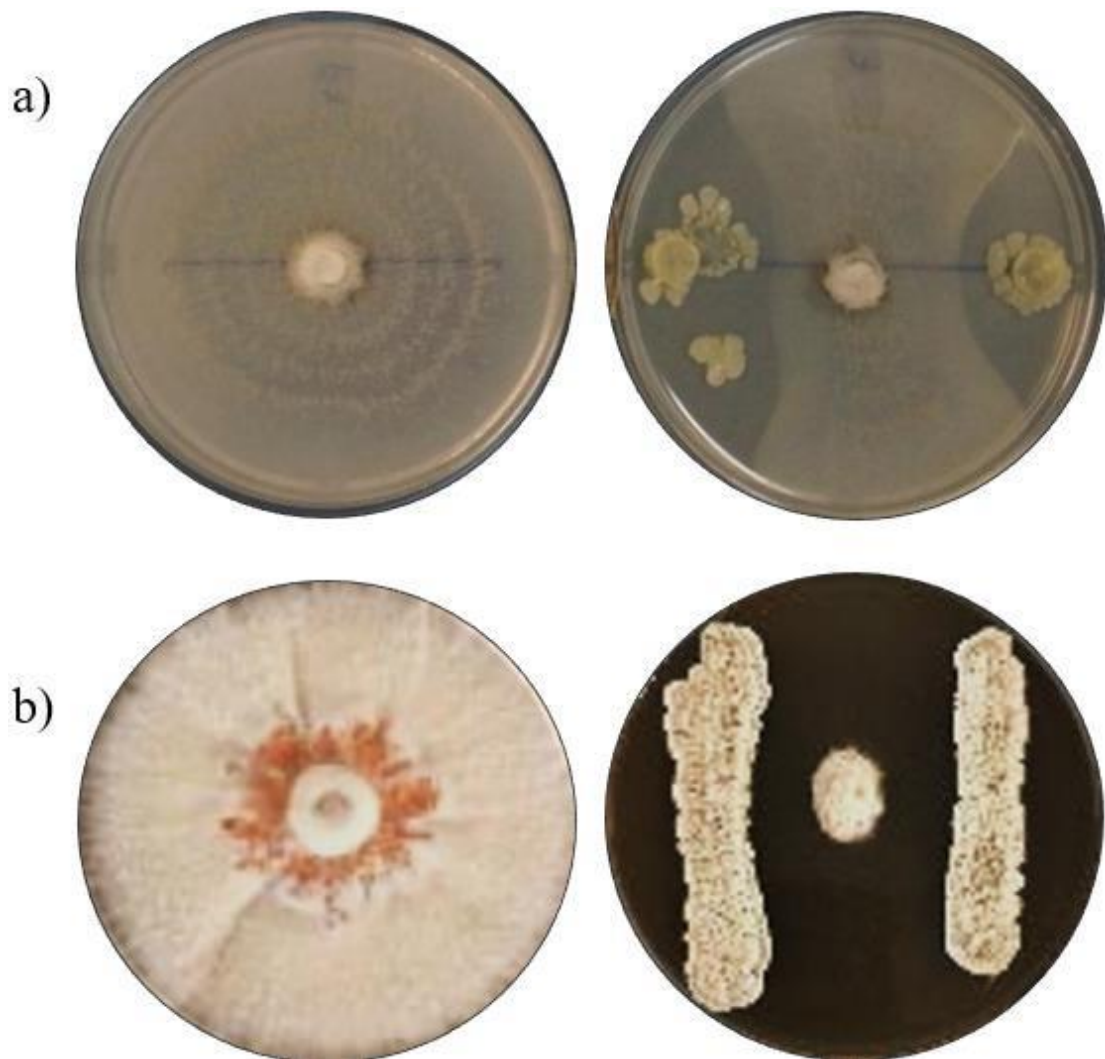


Figura 2. a) ensaio de placa de cultura dupla para verificação de antagonismo *in vitro* da linhagem R132 de Liotti et al. (2019); b) ensaio de placa de cultura dupla para verificação de antagonismo *in vitro* da linhagem MPUR 42.5.

Conclusões

Potencial do isolado MPUR 42.5 no controle biológico *in vitro* do fungo causador da antracnose do guaranazeiro (*Colletotrichum guaranicola*), o que à torna uma candidata para futuros ensaios *in planta*. Contudo, ressaltamos os rios amazônicos quanto a investigação de novos microrganismos com potencial biotecnológico.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas pelo suporte financeiro e concessão de Bolsas de estudo obtido a partir do programa Biodiversa (Edital Nº 007/2021). Ao Conselho Nacional de

Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior CAPES-Procad AmazonMicro e CAPES-Amazônia Legal.

Referências

Anith, K.N.; Nysanth, N.S.; Natarajan, C. 2021. Novel and rapid agar plate methods for in vitro assessment of bacterial biocontrol isolates' antagonism against multiple fungal phytopathogens. *Letters in Applied Microbiology* 73(2): 229-236.

Botelho, M.G.L.; Pimentel, B.S.; Furtado, G.; M.C.S. 2020. Agrotóxicos na agricultura: agentes de danos ambientais e a busca pela agricultura sustentável. *Research, Society and Development* 9(8): e396985806-e396985806.

Carmona-Hernandez, S.; Reyes-Pérez, J.J.; Chiquito-Contreras, R.G.; Rincon-Enriquez, G.; Cerdan-Cabrera, C.R.; Hernandez-Montiel, L.G. 2019. Biocontrol of postharvest fruit fungal diseases by bacterial antagonists: a review. *Agronomy* 9(3): 121.

Ferreira, M.V.A.L. Mortes e anomalias causadas por agrotóxicos revelam a fragilidade das "doses seguras" nos alimentos e na água. Fórum Catarinense de Combate aos Impactos dos Agrotóxicos e Transgênicos - FCCIAT, em 23 de outubro de 2019. (<https://fcciat.blogspot.com/2019/10/mortes-e-anomalias-causadas-por.html?sref=fb&m=1>). Acessado em fevereiro de 2023.

Hess, S.C.; Nodari, R.O.; Lopes-Ferreira, M. 2021. Agrotóxicos: críticas à regulação que permite o envenenamento do país. *Desenvolvimento e Meio Ambiente*. 57: 106-134.

Law, J.W.F.; Letchumanan, V.; Tan, L.T.H.; Ser, H.L.; Goh, B.H.; Lee, L.H. 2020. The Rising of "Modern Actinobacteria" Era. *Progress In Microbes & Molecular Biology* 3: 1- 6.

Liotti, R.G.; Figueiredo, M.I.S.; Soares, M.A. 2019. *Streptomyces griseocarneus* R132 controls phytopathogens and promotes growth of pepper (*Capsicum annuum*). *Biological Control* 138: 104065.

Vaijyanthi, G.; Vijayakumar, R.; Dhanasekaran, D. 2016. Actinobacteria - A Biofactory of Novel Enzymes. In: Dhanasekaran, D.; Jiang, Y. *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. Intech Open, Rijeka.

Yadav, A.; Kumar, R.; Kumar, S.; Kumar, V. 2017. Beneficial microbiomes: biodiversity and potential biotechnological applications for sustainable agriculture and human health. *Journal of Applied Biology and Biotechnology* 5(6): 45-57.