

12

Importância de actinobactérias para a agricultura

Janete Magali de Araújo

Bióloga, Dra., Universidade Federal de Pernambuco/UFPE, Depto. de Antibióticos
E-mail: janetemagali@yahoo.com.br

Glícia Maria Torres Calazans

Farmacêutica, Dra., Universidade Federal de Pernambuco/UFPE, Depto. de Antibióticos

Itamar Soares de Melo

Engenheiro Agrônomo, Dr., Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna/SP

INTRODUÇÃO

A utilização de microrganismos para solucionar problemas relacionados com a produtividade agrícola é uma área que está em pleno desenvolvimento, e os metabólitos microbianos usados como produtos agroativos são de grande importância econômica tendo em vista a redução dos efeitos ambientais causados pelos compostos químicos sintéticos. O uso indiscriminado de defensivos agrícolas prejudica a microbiota natural do solo, induzindo ao rápido desenvolvimento de microrganismos resistentes além de acarretar graves problemas à saúde do homem e ao meio ambiente.

A população mundial vem aumentando progressivamente em uma proporção de 160 pessoas por minuto, exigindo maior produção de alimentos para atender a essa demanda (Hoisington et al., 1999).

Nesse contexto, a população microbiana do solo, especialmente a rizosférica, que ocorre na interface solo-raiz, e a endofítica, que vive dentro do tecido vegetal sem causar dano à planta, constituem uma das principais fontes bióticas de grande importância para o crescimento e sanidade da planta. Isso ocorre pelo fato de a população microbiana estar envolvida na decomposição da matéria orgânica, na mineralização, solubilização e mobilização de nutrientes, favorecendo e disponibilizando os mesmos para serem absorvidos pelas raízes (Alexander, 1971). Essa interação planta-microrganismo é responsável por grande impacto na funcionalidade do solo melhorando a produtividade agrícola.

Entre os microrganismos da rizosfera os actinomicetos, atualmente denominados actinobactérias, participam da dinâmica deste microambiente onde o fluxo de carbono e outros nutrientes constituem fatores determinantes para a funcionalidade desse ambiente (Kennedy & Smith, 1995).

Entre as actinobactérias os estreptomicetos compreendem um grupo de bactérias filamentosas Gram-positivas, saprofíticas, que colonizam o solo e, em decorrência da grande diversidade metabólica e da facilidade de dispersão dos esporos, essas bactérias desempenham um papel importante nos diferentes ecossistemas especialmente no solo, na rizosfera e no tecido vegetal (Kieser et al., 2000).

O estímulo do crescimento vegetal pelos endófitos decorre da fixação de nitrogênio, produção de fitohormônio, biocontrole de fitopatógenos por meio da produção de antibióticos ou de sideróforos, e indução de resistência sistêmica (Bailey et al., 2006; Compant et al., 2005; Takahashi & Omura, 2003).

A necessidade de aumentar a produtividade agrícola leva a um maior requisito de fertilizantes, ao desenvolvimento de técnicas para melhoramento genético de cultivares, e, conseqüentemente, à utilização de agroativos para debelar as pragas e doenças com vistas a uma produção de alimentos maior.

1 INTERAÇÃO ACTINOBACTÉRIA - PLANTA

A maioria das actinobactérias é saprofítica, ocorre em vários ecossistemas como solo, rizosfera, sedimentos de lagoas e resíduos diversos, degradando matéria orgânica para sua nutrição. Entretanto, a partir do século XIX vários trabalhos mostraram que as actinobactérias penetram na planta como endófito, colonizando o tecido vegetal sem causar prejuízo à planta e estabelecendo uma associação mutualística (Azevedo et al., 2000; Hallmann et al., 1997).

A atividade biológica das actinobactérias endofíticas pode afetar o crescimento da planta pela suplementação de nutrientes (Schippers et al., 1987), pela produção de metabólitos secundários *in situ*, e estimular ou diminuir o desenvolvimento vegetativo das mesmas (Mishra et al., 1987), além de proteger a planta contra microrganismos fitopatogênicos (Abd-Allah, 2001; Getha & Vikineswary, 2002).

Essas pesquisas mostram porque plantas axênicas, isto é, isentas de microrganismos, apresentam baixa tolerância ao estresse, o que pode estar relacionado com a ausência de microrganismos endofíticos (Hallmann et al., 1997). Essa afirmação vem evidenciar a grande importância desses microrganismos no desenvolvimento da planta.

As actinobactérias endofíticas colonizam o tecido vegetal, com estabilidade, acentuando cada vez mais o seu potencial como agente de controle biológico para o desenvolvimento da agricultura amigavelmente ecológica (Franco & Coutinho, 1991).

A associação entre actinobactérias e órgãos de plantas pode ser deletéria ou benéfica, uma vez que essas bactérias filamentosas podem secretar compostos herbicidas; causar doença como a sarna da batata; fixar o nitrogênio simbioticamente ou proteger a raiz da planta contra infecção fúngica.

Nesse grupo de actinobactérias, o gênero *Frankia*, conhecido como actinorízica, foi o primeiro endófito simbiótico fixador de nitrogênio em plantas não-leguminosas a ocorrer em regiões temperadas em mais de 21 gêneros de angiospermas como, por exemplo: *Casuarina*, *Elegans*,

Alnus, *Myrica* (Benson & Silvester, 1993) e em região tropical na família Casuarinaceae (Lechevalier, 1988). A fixação do nitrogênio por plantas actinorrízicas é importante em regiões temperadas nas quais a temperatura é baixa e as leguminosas nativas são ausentes ou raras e o nitrogênio do solo decorre dessa simbiose e da fixação *in vitro* por *Frankia* (Sprent & Sprent, 1990). Em decorrência do seu lento crescimento, *Frankia* foi isolada como cultura pura em 1978, por Callahan et al., a partir de nódulos da planta *Comptonia*.

Dentre as actinobactérias ocorrem também algumas espécies de *Streptomyces* como *S. scabies*, *S. acidiscabies* e *S. turgidiscabies*, que são patogênicas para alguns vegetais, causando escabiose ou sarna em batata, beterraba, cenoura e rabanete.

Inúmeras investigações mostram que actinobactérias endofíticas produzem no tecido da planta pelo menos três tipos de substâncias antagônicas: antibióticos, enzimas e sideróforos (Trejo-Estrada et al., 1998). Actinobactérias endofíticas isoladas da raiz de trigo foram identificadas como pertencentes ao gênero *Streptomyces* e apresentavam antagonismo contra fitopatógenos dessa planta, reduzindo em até 70% certas doenças (Coombs et al., 2003).

As linhagens de actinobactérias endofíticas isoladas de quatro cultivares de arroz mostraram maior predominância de *Streptomyces* e a maioria foi identificada ao nível de espécie como: *S. griseofuscus*, *S. hygrosopicus*, *S. griseoviolaceus*, *S. cinereus*, *S. albosporus* e *S. aureus*. A atividade antifúngica dessas linhagens contra fitopatógenos do arroz mostrou que *S. hygrosopicus* e *S. griseofuscus* apresentaram forte atividade antagonista contra esses fitopatógenos (Tian et al., 2004).

O endófito *S. aureofaciens* CMUAc 130 foi isolado de raízes de *Zingiber officinale* Rose (*Zingiberaceae*) e mostrou nos ensaios *in vitro* elevada atividade antagonista para *Colletotrichum musae* agente causal da antraquinose da banana e para *Fusarium oxysporum*, que ocasiona a doença conhecida como "murcha" do trigo. Desse endófito foi isolado o antibiótico 5,7-dimetoxi-4- ρ -metoxifenilcumacin, com grande atividade *in vitro* contra os fitopatógenos do trigo (Taechowisan et al., 2005).

Tokala et al. (2002) relataram que a colonização preferencial de *Streptomyces lydicus* WYEC108, na raiz de ervilha, influencia a atividade de outros microrganismos da rizosfera, bem como a atividade fisiológica da planta hospedeira, mostrando o efeito positivo dessa interação com o vegetal.

2 ACTINOBACTÉRIAS NA PROMOÇÃO DO CRESCIMENTO EM PLANTAS

As rizobactérias promotoras de crescimento de plantas, conhecidas como RPCP, estão associadas a muitas espécies vegetais e ocorrem sob várias condições ambientais em diferentes ecossistemas (Kloepper et al., 1999). Nesse micronicho ecológico, ocupado por microrganismos saprofíticos, encontram-se vários grupos bacterianos, tais como, os gêneros *Bacillus*, *Rhizobium*, *Acetobacter*, *Agrobacterium*, *Enterobacter* e *Streptomyces*. Investigações recentes (Gray & Smith, 2005) mostram que algumas rizobactérias penetram no tecido da planta estabelecendo-se como uma população endofítica, as quais não causam nenhum sintoma de doença na planta como descrito por vários autores (Azevedo et al., 2000; Hallmann et al., 1997; Whipps, 2001).

Apesar de as rizobactérias de vida livre e de bactérias endofíticas ocuparem nichos ecológicos distintos, esses microrganismos usam os mesmos mecanismos para promover o crescimento da planta e controlar a fitopatogenia (Hallmann et al., 1997; Bloemberg et al., 2001; Lodewyckx et al., 2002).

Dentro desse contexto, as actinobactérias endofíticas têm grande importância na agricultura sustentável, uma vez que colonizam o tecido vegetal, obtendo nutrição e proteção da planta hospedeira, ao mesmo tempo em que estimulam o crescimento da planta pela produção de fitohormônios, promovem o biocontrole de fitopatógenos por meio da produção de antibióticos e de enzimas líticas, além de induzir à resistência sistêmica a doenças (Lodewyckx et al., 2002; Taechowisan et al., 2003; Companat et al., 2005). Essa atividade biológica dos endófitos

nas plantas explica porque plantas axênicas, isto é isentas de microrganismos, apresentam baixa tolerância ao estresse (Hallmann et al., 1997).

Tem sido demonstrado que os endófitos melhoram e promovem o crescimento da planta hospedeira, além de reduzir sintomas de doenças causados por patógenos de plantas e ou vários estresses ambientais.

Experimento em casa de vegetação, com sementes de tomate, mostrou o efeito dos esporos do endofítico *S. hygroscopicus* S17, isolado da planta *Pteridium aquilinum*, induzindo um acréscimo na promoção de crescimento, observado pelo aumento de peso e altura da planta, oito vezes maior que o controle (Igarashi et al., 2002). Estudos químicos sobre os metabólitos secundários produzidos por essa linhagem de *Streptomyces* mostraram a produção de várias substâncias químicas, dentre elas o ácido pterídico, que se assemelha às auxinas, que são os fitohormônios promotores do crescimento de plantas. Experimento com cultura de tecido de feijão e tabaco utilizando 1 μ M de ácido pterídico mostrou aceleração do crescimento da raiz, duas vezes maior em comparação ao controle, comprovando o efeito da substância como promotor de crescimento de planta (Igarashi et al., 2002 e Furumai et al., 2003).

3 CONTROLE BIOLÓGICO POR ACTINOBACTÉRIAS

Em decorrência do aumento populacional, a demanda por alimentos de boa qualidade é cada vez maior, sendo necessário implementar uma maior produção de grãos. Apesar de todo avanço tecnológico na agricultura, muitas pragas, como: plantas daninhas, insetos e patógenos de plantas, atualmente, ainda são um grande problema para a agricultura sustentável. Aumentar a produção de alimentos para atender à demanda populacional constitui um grande desafio.

Os agroquímicos têm papel de destaque no aumento da produção de grãos pela supressão de pestes e doenças. Entretanto, a excessiva aplicação desses produtos vem ocasionando graves problemas ecológicos e à saúde do homem (Saxena & Pandey, 2001).

Dados publicados por autores em 2001, já indicavam que 447 espécies de insetos, 200 espécies de fitopatógenos e 48 espécies de plantas daninhas eram resistentes aos tradicionais agroquímicos usados devido à utilização incorreta desses produtos (Saxena & Pandey, 2001).

Alguns mecanismos propostos para explicar como os microrganismos controlam as doenças de plantas causadas por fungos patogênicos incluem antibiose (Van Driesche & Bellows, 1996), que envolve a produção de metabólitos secundários na rizosfera, e o micoparasitismo que está relacionado com a produção de enzimas extracelulares hidrolíticas da parede celular de fungos. Esses metabólitos podem inibir o crescimento e/ou a diferenciação de fungos patogênicos (Crawford et al., 1993).

Além de antibióticos, o gênero *Streptomyces* é conhecido por produzir enzimas extracelulares hidrolíticas como quitinases e β -1-3 glucanases, hidrolases que são responsáveis também, pela atividade antifúngica (Mahadevan & Crawford, 1997). A maioria dos fungos contém quitina e β -glucana na parede celular (Wessels et al., 1990) e a hidrólise destes polímeros promove a lise da hifa fúngica inibindo seu crescimento (Shapira et al., 1989).

O sucesso da supressão de doenças por agentes microbianos é o resultado da interação entre o agente de biocontrole e a comunidade da rizosfera e/ou filosfera incluindo, fundamentalmente, o patógeno-alvo e a planta hospedeira. Em decorrência da grande produção de metabólitos secundários por actinobactérias, vários pesquisadores japoneses empreenderam diferentes pesquisas para selecionar compostos bioativos de interesse para a agricultura, sendo blasticidina S o primeiro fungicida introduzido na agricultura para controlar a "bruzone" causada por *Pyricularia oryzae* (Misato, 1982). Blasticidina S, um antibiótico produzido por *S. griseochromogenes* (Takeuche et al., 1958), tem atividade para fungos fitopatogênicos e atua inibindo o desenvolvimento do micélio, germinação e formação do esporo, mostrando-se tão efetivo como o fungicida organomercurial. Entretanto, apresenta menor toxicidade ao meio ambiente e é facilmente biodegradável. Esse fungicida, por causar irritação nos olhos, obrigou os fabricantes a de-

envolverem uma formulação com acetato de cálcio, que se mostrou efetiva em desintoxicar tais irritações (Yone-Hara et al., 1973). Esse composto formulado pode ser utilizado na concentração de 30-40 kg/ha para controle da bruzone.

A atividade biocontroladora de *S. hygrosopicus* var. *geldanus* está relacionada com a concentração de geldanamicina produzida no solo. Experimento realizado por Rothrock & Gottlieb (1984), utilizando solo esterilizado, infestado artificialmente com *Rhizoctonia solani*, mostrou que o controle da podridão da raiz dependia da concentração *in situ* de geldanamicina, o qual na concentração de 20 mg/g de solo promove o controle da doença fúngica.

Na China, vários antibióticos produzidos por diferentes espécies de *Streptomyces* já foram registrados para controle de doenças de plantas. Validamicina, usado para o controle de *Botrytis tritici*, constituiu-se no antibiótico mais comercializado na China, cujas vendas corresponderam a 40.000 t por ano, sendo aplicado em mais de 10 milhões de hectares (Baogen, 1996).

Aghighi et al. (2004) isolaram do solo *S. plicatus* (101) com atividade antifúngica contra *Verticillium dahliae* Kleb., um patógeno de planta que causa infecção vascular em mais de 300 espécies, incluindo espécies agrícolas de grande expressão econômica, como tomate, algodão, alfafa, morango e batata (Rowe & Powelson, 2002). *S. plicatus* (101) inibe o crescimento micelial, os microesclerócios, além de inibir a produção de melanina do fitopatógeno, desencadeando maior suscetibilidade no antagonista e, conseqüentemente, favorecendo o biocontrole de fitopatógenos no solo.

Inúmeras investigações *in vitro* mostram que espécies de *Phytophthora* e *Pythium* podem ser controladas por actinobactérias. Broadbent et al. (1971) verificaram que várias espécies de *Streptomyces* produzem antibióticos que inibem *Pythium* e *Phytophthora*, agentes causadores da podridão da raiz de várias plantas ornamentais (Yuan & Crawford, 1995) e de legumes (Filonow & Lockwood, 1985).

Yuan & Crawford (1995) verificaram que *S. lydicus* WYEC108 apresenta atividade antagônica contra *P. ultimum* e *R. solani* nos ensaios *in*

vitro e em casa de vegetação. A formulação contendo 10^8 UFC/g controlou o tombamento de plântulas causado por *Pythium* em sementes de ervilha, de algodão e de milho. Por meio de microscopia eletrônica de varredura (SEM), Yuan & Crawford (1995) verificaram que *S. lydicus* danifica vários sítios da hifa de *Pythium*.

Tem sido demonstrado que várias espécies de *Streptomyces* apresentam atividade micoparasítica em esporos e hifas de fungos (Papavizas & Sutherlan, 1991; Sneh et al., 1977) desintegrando a parede celular fúngica e facilitando a penetração mais eficiente de outros compostos antifúngicos (Crawford et al., 1993; Trejo-Estrada et al., 1998).

Estudos *in vitro* com *Streptomyces* mostram que metabólitos secundários e substâncias biologicamente ativas de alto valor comercial como as enzimas que degradam a parede celular de fungos são altamente importantes para o controle biológico.

S. violaceusniger G10 apresenta atividade antibiótica contra *F. oxysporum* f. sp. *ubense*, agente causal da murcha vascular da banana (Raguchander et al., 1997). Ensaio *in vitro* com *S. violaceusniger* G10 mostraram que essa linhagem apresenta atividade antibiótica também para *Phytophthora palmivora* e *Pyricularia oryzae* (Getha & Vikineswary, 2002). O mecanismo de parasitismo e competição do agente biocontrolador de doenças de plantas tem sido amplamente demonstrado, enquanto a antibiose é menos estabelecida pela dificuldade de se avaliar a produção e a função do composto no solo (Fravel, 1988; Rothrock & Gottlieb, 1984). A antibiose é considerada bastante vantajosa no controle biológico de doenças porque o antibiótico se difunde rapidamente na natureza não necessitando do contato direto entre patógeno e antagonista (Hajlaoui et al., 1994). Os antibióticos induzem má-formação das hifas apicais, tais como: atrofiamento, protuberâncias e distorções, além disso, o tubo germinativo apresenta-se altamente ramificado (Raguchander et al., 1997; Richmond, 1975).

De acordo com Getha & Vikineswary (2002), existe uma correlação entre a antibiose e a lise micelial do fungo, uma vez que a enzima lítica destrói o tubo germinativo prevenindo a germinação do esporo, enquanto o antibiótico induz à autólise da hifa fúngica. A autólise resulta na

autodigestão do protoplasma e parede celular por enzimas do próprio fungo (Lloyd et al., 1965), enquanto a autólise induzida por antibióticos e toxinas de microrganismos antagonistas pode não resultar em completa lise do micélio fúngico no solo. A dissolução final da parede celular dependerá da atividade hidrolítica da comunidade microbiana do solo (Lockwood & Lingappa, 1963).

Várias linhagens de *Streptomyces* produzem antibióticos e enzimas hidrolíticas, como por exemplo, *S. violaceusniger* YCED-9 que apresenta atividade para *Pythium* e *Phytophthora*, bem como quitinase e β -1-3 glucanases, aumentando assim o seu potencial como agentes de biocontrole (Trejo-Estrada et al., 1998).

S. hygroscopicus subs *geldanus* produz geldamicina um antifúngico que inibe *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, agente causador da podridão da raiz de framboesa e é ativo também contra *S. scabies*, causador da sarna da batata (*Solanarum*). Essa linhagem foi imobilizada em quitosana mostrando-se eficiente como um agente controlador de *S. scabies* (Beauséjour et al., 2003).

4 HERBICIDAS PRODUZIDOS POR ACTINOBACTÉRIAS

As plantas daninhas representam 0,1% da flora mundial correspondendo a cerca de 240 espécies relatadas como alelopáticas, que são as responsáveis por vários prejuízos no agroecossistema em decorrência da sua interferência competitiva com agricultura produtiva (Qasem & Foy, 2001). Nos Estados Unidos são gastos com pesticidas anualmente 35 bilhões de dólares, ocorrendo ainda uma perda de 12% na produção agrícola (Pimentel, 2001).

Os herbicidas sintéticos começaram a ser utilizados na década de 1930 e ao longo do tempo vêm causando grandes problemas à saúde do homem e ao meio ambiente. Visando ao desenvolvimento da agricultura sustentável, e a minimizar os problemas causados pelos herbicidas sintéticos, os herbicidas naturais de plantas e de microrganismos começaram a surgir há quatro décadas, e, desde então, inúmeras fitotoxinas

com propriedades herbicidas foram isoladas de actinobactérias e utilizadas no manejo de plantas daninhas. Assim, os metabólitos microbianos têm sido apontados como excelentes fontes de fitotoxinas que podem ser usados como herbicidas.

Produtos naturais como os metabólitos secundários de actinobactérias, especialmente *Streptomyces*, vêm se destacando como uma importante fonte de bioherbicidas por produzirem inúmeros compostos extracelulares bioativos, cujas características são: alta atividade biológica, grande diversidade de estrutura química e fácil degradação no meio ambiente, sendo essas características fundamentais para o desenvolvimento da agricultura sustentável (Li et al., 2003).

Esses produtos naturais tiveram grande importância no desenvolvimento de herbicidas comerciais, uma vez que sua bioeficiência podia ser aumentada por meio de mudanças na estrutura química ou através da síntese de análogos químicos, baseados na estrutura do bioherbicida natural (Okuda, 1992).

A primeira fitotoxina microbiana usada para o controle de ervas daninhas foi anisomicina, que é produzida por *S. toyocaensis* (Yamada et al., 1972). Essa fitotoxina exibe excelente atividade contra as plantas daninhas *Echinochloa crusgalli* e *Digitaria sanguinalis*, mas não tem atividade contra o nabo (*Brassica rapa* L), o tomate (*Lycopersicon esculentus*) ou outras espécies de horticulturas (Ito et al., 1974). Metoxifenon ou NK 049 é o análogo sintético de anisomicina que foi desenvolvido como um herbicida comercial para utilização na agricultura do arroz, uma vez que é degradado no solo e seus metabólitos não são tóxicos para essas plantações (Saxena & Pandey, 2001).

Depois da anisomicina, bialafos e fosfinotricina (PPT) foram os bioherbicidas de grande sucesso no controle de plantas daninhas, os quais são produzidos por *S. hygrosopicus* e *S. viridochromogenes* TU494. Inicialmente, foi demonstrado que *S. viridochromogenes* apresentava atividade contra *Pellicularia Saaki* um fitopatógeno causador da doença "queima da bainha" em plantação de arroz (Kondo et al., 1973). Estudos posteriores mostraram que o metabólito era um potente inibidor de plantas

daninhas mono e dicotiledôneas, além de ser rapidamente degradado no solo com uma vida média de 2 a 3 dias.

Bialafos e fosfinotricina (PPT) são bioherbicidas de amplo espectro e atuam no metabolismo do nitrogênio de todas as plantas (SINDAG, 2004). Bialafos não inibe a glutamina sintetase, porém quando metabolizado, transforma-se em fosfinotricina, que é um análogo do ácido glutâmico inibidor da glutamina sintetase, que causa acúmulo de amônia e formação de clorose nas plantas.

Glufosinato é um bioherbicida comercializado com os nomes de Basta®, Liberty® e Ignite® e tem como princípio ativo fosfinotricina. O desenvolvimento de plantas engenheiradas, resistentes a esse herbicida, foi realizado pela introdução do gene de resistência *pat* que faz parte do aglomerado biossintético de *S. viridochromogenes* o qual previne a desintoxicação da fosfinotricina não bloqueando a glutamina sintetase e evitando a formação de clorose nas plantas. Plantas como milho, soja, canola, arroz, beterraba e outras são resistentes ao glufosinato (Schwartz et al., 2004).

5 BIOPESTICIDAS DE ACTINOBACTÉRIAS

As formulações de agentes de biocontrole para uso comercial geralmente envolvem a mistura de propágulos viáveis com carregadores inertes, como caulim e suplementos nutricionais, tais como glicose, de modo a obter pós molháveis ou grânulos. Quaisquer que sejam os tipos de formulações, elas devem apresentar estabilidade e meia-vida de prateleira suficiente para garantir efeitos satisfatórios em condições de campo. Assim, a natureza do agente de biocontrole, o patógeno-alvo, sítio de ação e os requisitos de distribuição são os principais fatores determinantes quanto ao tipo de formulação.

Polímeros, como o alginato e carragenina, têm sido usados para imobilizar células e enzimas. As formulações granuladas, ideais para aplicação ao solo, são obtidas misturando-se a biomassa fermentada com adjuvantes e uma solução contendo um sal de cálcio a fim de

solidificar tal mistura. Os géis formados são secos de modo a facilitar seu manejo, armazenamento e aplicação.

Algumas formulações microbianas têm sido desenvolvidas utilizando-se procedimentos extremamente simples. Elas devem, obrigatoriamente, apresentar condições que favoreçam a sobrevivência do microrganismo nas preparações e eficiência de controle em condições de campo. Yuan & Crawford (1995), por exemplo, formularam esporos de *S. lydicus* WYEC108 com areia e turfa. A longevidade de esporos da linhagem WYEC108, armazenados à temperatura ambiente (20 °C), declinou de 10^9 UFC/grama para 10^8 UFC/grama após dois meses e meio de armazenamento. No entanto, essa densidade manteve-se a mesma após um período adicional de três meses. Os autores demonstraram que essa formulação foi efetiva em reduzir podridões radiculares causadas por *P. ultimum*.

Bioencapsulamento de células de *Streptomyces* com polímeros naturais tem se mostrado efetivo em manter a viabilidade dessa actinobactéria durante o armazenamento (Jobin et al., 2005). Encontra-se bem documentado que microrganismos formados de esporos de resistência, como *Bacillus* e actinobactérias, apresentam vantagem superior com relação à viabilidade de suas células durante o processo de encapsulamento e durante o processo de armazenamento. Já os microrganismos não-esporulantes, como *Pseudomonas*, apresentam uma taxa de sobrevivência menor quando encapsuladas.

As pesquisas sobre formulações de actinobactérias são ainda muito incipientes e algumas poucas estão disponíveis comercialmente. Um desses produtos de pesquisa Mycostop®, desenvolvido pela Kemira, à base de *S. griseoviridis*, tem sido comercializada na Europa e nos Estados Unidos. É uma formulação pó molhável para proteção de plantas ornamentais e holerícolas contra os seguintes patógenos: *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium* e *Phomopsis* (Tahvonen & Avikaiken, 1987). Experimentos em casa de vegetação, realizados por Utkhede & Koch (2004) para avaliar o tratamento químico e biológico no controle da requeima do pepino (*Cucumis sativa* L.), causada por *Didymella bryoniae* (Auersew) Rehm, mostraram que o comprimento das lesões variou de

9,8 a 15,8 mm, para os biofungicidas Mycostop®, RootShield®, SoilGard® e Decree®, não apresentando diferença significativa entre os produtos testados.

Experimentos em condições de laboratório e em casa de vegetação têm mostrado a eficácia de uma formulação à base *S. violaceusniger* YCED9, leite desnatado e zeolite no controle de *Sclerotinia homeocarpa* e *R. solani* (Trejo-Estrada et al., 1998).

Mais recentemente, foi lançado um inoculante microbiano à base de *S. rimosus* para a agricultura, denominado Rhizovit®, que é usado no controle de vários fitopatógenos: *Pythium* spp., *Fusarium* spp., *Phomopsis* sp., *Phytophthora* spp., *R. solani*, *A. brassicola*, *Botrytis* sp. e *Fusarium* spp. (Aghighi et al., 2004).

Gardner & Fravel (2002) relataram também o lançamento de um novo bioinseticida para controlar doenças de plantas, denominado Actinovate®, que tem como agente biocontrolador *S. lydicus* WYEC 108. Esse novo produto apresenta atividade para *Pythium* e *Aphanomyces*.

Para que o agente biocontrolador possa se estabelecer é importante uma grande população metabolicamente ativa para promover a proteção da planta por competição, antagonismo, parasitismo e predação ou ainda desencadear respostas de indução sistêmica de defesa da planta hospedeira.

Como já mencionado no início deste capítulo, na China vem sendo utilizado um produto comercial que utiliza esporos de *Streptomyces* sp. 5406, que protegem a colheita do algodão contra diversos fungos patogênicos (Yin et al., 1965; Jobin et al., 2005).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso continuado de agroquímicos para a redução de pragas e doenças de plantas apresenta sérios riscos ao ambiente, além de ocasionar graves problemas de saúde ao homem, principalmente aos trabalhadores rurais. Como alternativa para esse impasse, a utilização de

actinobactérias produtoras de antibióticos, de enzimas e de fitotoxinas apresenta-se como uma possibilidade viável. Em alguns países, no controle biológico de doenças e de pragas já são utilizados produtos formulados que têm como base esporos de *Streptomyces* ou o seu princípio ativo, como pode ser visto na bibliografia citada. Nesse cenário, a utilização de actinobactérias para melhoria da produtividade agrícola é um recurso de grande importância econômica, além do que pode aumentar a produção de alimentos sem causar impacto ambiental. As dificuldades na utilização desses produtos ecologicamente amigáveis, principalmente nos países em desenvolvimento, decorrem de custos mais elevados, que são inerentes à produção biotecnológica.

Sem dúvida, os microrganismos desenvolvem um papel fundamental na vida do planeta, o qual é evidenciado pela alta diversidade microbiana existente e que responde em grande parte pela manutenção do equilíbrio no meio ambiente.

Na maioria das vezes, a associação entre actinobactérias e plantas é benéfica, promovendo o crescimento do vegetal ou auxiliando na proteção contra infecções, e sua presença no solo pode ainda aumentar a fertilidade levando a um incremento na produtividade agrícola. Portanto, em adição ao destaque já conquistado na produção mundial de antibióticos, esse grupo de bactérias filamentosas surge como uma possibilidade atraente no campo do agronegócio.

A agricultura sustentável requer a utilização de estratégias que permitam o aumento da produção de alimentos sem o prejuízo do meio ambiente e da saúde do planeta. Finalmente o homem começa a se conscientizar de que apenas lucros não serão suficientes para a garantia de existência de uma vida melhor, e, por isso, cada vez mais buscará alternativas menos agressivas ao ambiente. Tais alternativas deverão assegurar o bem-estar da coletividade em condições de biossegurança não só para o homem, mas para o ecossistema como um todo, sem abrir mão da qualidade e segurança do produto gerado.

REFERÊNCIAS

- Abd-Allah EF 2001 *Streptomyces plicatus* as a model biocontrol agent. *Folia Microbiologica*, 46, p. 309-314.
- Aghighi SGH, Bonjar S & Saadoun I 2004 First report of antifungal properties of a new strain of *Streptomyces plicatus* (strain 101) against four Iranian phytopathogenic isolates of *Verticillium dahliae*, a new horizon in biocontrol agents. *Biotechnology*, 3, p. 90-97.
- Alexander M 1971 *Microbial Ecology*, J. Wiley & Sons, New York.
- Azevedo JL, Maccheroni W, Pereira JO & De Araujo WL 2000 Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electr. J. Biotechnol.* 3, p. 1-36.
- Bailey BA, Bae H, Strem MD, Robert DP, Thomas SE, Crozier J, Samuels GL, Choi IY & Holmes KA 2006 Fungal and plant gene expression during the colonization of cacao seedlings by endophytic isolates of four *Trichoderma species*. *Planta*, 224, p. 1449-1464.
- Baogen G 1996 Production and uses of Biopesticides in China In: *Advances in Biological Control of Plant Diseases*. Wenhua T, Cook RJ & Rovira A (eds.). China Agriculture University Press, Beijing. p. 332-334.
- Beauséjour J, Clermont N & Beaulieu C 2003 Effect of *Streptomyces melanosporofaciens* strain EF-76 and of chitosan on common scab of potato. *Plant and Soil*. 256, p. 463-468.
- Benson DR, Silvester WB 1993 Biology of Frankia strains, *Actinomycetes symbionts* of actinorhizal plants. *Microbiological reviews*. 57, p. 293-319.
- Bloemberg GVI & Lugtenberg BJJ 2001 Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Current Opinion Plant Biology*. 4, p. 343-350.
- Broadbent P, Baker F & Waterworth J 1971 Bacterial and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in Australia Melbourne soil. *Austral J. Biol. Sci.* Melbourne. 24, p. 925-944.
- Callahan D, Del Trediei P & Torrey JG 1978 Isolation and cultivation *in vitro* of the actinomycete causing root nodulation in *Comptonia*. *Science* 199, p. 899-902.
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Clement C & Barka EA 2005 Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanism of action, and future prospect. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, p. 4951-4959.
- Coombs JT, Michelsen PM & Franco CM 2003 Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in wheat. *Biological Control*. 29, p. 359-366.
- Crawford DL, Lynch JM, Whipps JM & Ousley MA 1993 Isolation and Characterization of actinomycetes antagonists of a fungal root pathogen. *Appl Environ Microbiol.* 59, p. 3899-3905.

- Filonow AB & Lockwood JL 1985 Evaluation of several actinomycetes and the fungus *Hyphochytrium catenoides* as biocontrol agents for Phytophthora root rot of soybean. *Plant Disease* 69, p. 1033-1036.
- Franco CMM & Coutinho LEL 1991 Detection of novel secondary metabolites. *Crit. Rev. Biotechnol.* v. 11, p. 193-276.
- Fravel DR 1988 Role of antibiosis in the biocontrol of plants diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.* 26, p. 75-91.
- Furumai T, Yamakawa T, Yoshida R & Igarashi Y 2003 Clethramycin, a new inhibitor of pollen tube growth with antifungal activity from *Streptomyces hygroscopicus* TP-A0623. I. Screening, taxonomy, fermentation, isolation and biological properties. *J. Antibiot.* 56, p. 700-4.
- Gardner BBM & Fravel DR 2002 Biological control of plant pathogens: Research, commercialization and application in the Usa. *Biol. Control Plant Pathogens.*
- Getha K, Vikineswary S 2002 Antagonistic effects of *Streptomyces violaceusniger* strain G10 on *Fusarium oxysporum* f.sp. cubense race 4: Indirect evidence for the role of antibiosis in the antagonistic process. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 28, p. 303-310.
- Gray EJ, Smith DL 2005 Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant–bacterium signaling processes. *Soil Biology and Biochemistry* 37, p. 395-412.
- Hajlaoui MR, Traquair JA, Jarvis WR & Bélanger RR 1994 Antifungal activity of extracellular metabolites produced by *Sporothrix flocculosa*. *Biocontrol Sci. Technol.* 4, p. 229-237.
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF & Kloepper, JW 1997 Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can. J. Microbiol.* 43, p. 895-914.
- Hoisington D M, Khairallah T, Reeves JM, Ribaut B, Skovmand S, Taba & M Warburton 1999 Plant genetic resources: What can they contribute toward increased crop productivity? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96, p. 5937-5943.
- Igarashi Y, Lida T, Yoshida R & Furumai T 2002 Pteridic acids A and B, novel plant growth promoters with auxin-like activity from *Streptomyces hygroscopicus* TP-A0451. *J. Antibiotics.* 55, p. 764-767.
- Ito K, Futatsuya F, Hibik, Ishida S, Yamada O, Munakata K 1974 herbicidal activity of 3,3' – dimethyl-4-methoxybenzophenone (NK-049) on weeds. *Weeds Sci.* 18, p. 10-12.
- Jobin G, Grondin G, Couture G, Beaulieu C 2005 Microscopic Examination of Chitosan Polyphosphate Beads with Entrapped Spores of the Biocontrol Agent, *Streptomyces melanosporofaciens* EF-76. *Microsc. Microana.* 11, p. 154-165.
- Kennedy AC & Smith KL 1995 Soil microbiol diversity and the sustainability of agricultural soils. *Plant and soil.* 170, p. 75-86.
- Kieser T, Bibb MJ, Buttner MJ, Chater KF & Hopwood DA 2000 *Practical Streptomyces genetics.* John Innes Centre, Norwich. 218 p.

- Kloepper JW, Tuzun S, Kue J 1999 Proposed definitions related to induce disease resistance. *Biocontrol Sci. Technol.* 2, p. 349-351.
- Kondo YT, Shomura Y, Ogawa T, Tsuruoka H, Watanabe K, Totsukawa T, Suzuki C, Moriyama J, Yohida S, Inouye & Niida 1973 Studies on a new antibiotic SF-1293. I. Isolation and physico-chemical and biological characterization of SF-1293 substance. *Sci. Reports of Meijo Seika Kaisha.* 13, p. 34-41.
- Lechevalier MP 1988 Actinomycetes in agriculture and forestry. In: *Actinomycetes in Biotechnology.* Goodfellow M, Williams ST & Mordarski M (eds.). p. 327-358. Academic Press New York.
- Li Y, Sun Z, Zhuang X, Xu L, Chen S & Li M 2003 Research progress on microbial herbicides. *Crop. Protec* 22, p. 247-252.
- Lloyd AB, Noveroske RL & Lockwood JL 1965 Lysis of fungal mycelium by *Streptomyces* spp. and their chitinase systems. *Phytopathology* 55, p. 871-875.
- Lockwood JL & Lingappa BT 1963 Fungitoxicity of sterilized soil inoculated with soil microflora. *Phytopathology* 53, p. 917-920.
- Lodewyckx C, Vangronsueld J, Porteous F, Moore ERB, Taghavi S, Mezgeay M & van der Lelie D 2002 Endophytic bacteria. *Crit. Rev. Plant Sci.* 21, p. 583-606.
- Mahadevan B & Crawford DL 1997 Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent *Streptomyces lydicus* WYEC108. *Enz. Microb. Technol.* 20, p. 489-493.
- Misato T 1982 Present status and future prospects of agricultural antibiotics. *J. Pesti Sci.* 7, p. 301-305.
- Mishra SK, Taft WH, Putnam AR & Ries SK 1987 Plant growth regulatory metabolites from novel actinomycetes. *Plant Growth Regul.* 6, p. 75-84.
- Okuda S 1992 Herbicides. In: *The Search for Bioactive Compounds from Microorganisms.* Omura S (ed.). p. 224-236. Springer-Verlag, New York.
- Papavizas GC & Sutherland ED 1991 Evaluation of oospore hyperparasites for the control of *Phytophthora* crown rot of pepper. *J. Phytopathol.* 131, p. 33-39.
- Qasem JR & Foy CL 2001 Weed allelopathy, its ecological impacts and future prospects: a review. *J. Crop Prod.* 4, p. 43-119.
- Raguchander T, Jayashree & Samiyappan R 1997 Management of *Fusarium* wilt of banana using antagonistic microorganisms. *J. Biol. Control* 11, p. 101-105.
- Richmond DV 1975 Effects of toxicants on the morphology and fine structure of fungi. *Adv Appl Microbiol.* 19, p. 289-319.
- Rothrock CS & Gottlieb D 1984 Role of antibiosis in antagonism of *Streptomyces hygroscopicus* var. *geldanus* to *Rhizoctonia solani* in soil. *Can J Microbiol.* 30, p. 1440-1447.
- Rowe RC & Powelson MR 2002 Potato Early Dying: Management challenges in a changing production environment. *Plant Disease* 86, p. 1184-1193.
- Saxena S & Pandey AK 2001 Microbial metabolites as eco-friendly agrochemicals for the next millennium. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55, p. 395-403.

Schippers B, Bakker AW & Bakker PAHM 1987 Interactions of Deleterious and Beneficial Rhizosphere Microorganisms and the Effect of Cropping practices. *Annual Review of Phytopathology*, Palo Alto, 25, p. 339-58.

Schwartz D, Berger S, Heinzilmann E, Muschko K, Welzel K & Wohlleben B 2004 Biosynthetic gene cluster of the herbicide phosphinothricin tripeptide from *Streptomyces viridochromogenes* Tri 494. *Appl. Environ Microbiol.* 70, p. 7093-7102.

Shapira R, Ordentlich A, Chet I & Oppenheim AB 1989 Control of plant diseases by chitinase expressed from cloned DNA in *Escherichia coli*. *Phytopathology* 79, p. 1246-1249.

SINDAG – Sindicato Nacional das Industrias de Defensivas Agrícolas. Relatório, 2004.

Sneh B, Humble SJ & Lockwood JL 1977 Parasitism of oospores of *Phytophthora megasperma* var. *sojae*, *P. cactorum*, *Pythium* sp. and *Aphanomyces euteiches* in soil by oomycetes, chytridiomycetes, actinomycetes, and bacteria. *Phytopathology*, 67, p. 622-628.

Sprent J & Sprent P 1990 *Nitrogen fixing organisms pure and applied aspect*. Chapman and Hall, London. 256p.

Taechowisan T, Peberdy JF & Lumyong S 2003 Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal activity. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 19, p. 381-385.

Taechowisan T, Lu C, Shen Y & Lumyong S 2005 Secondary metabolites from endophytic *Streptomyces aureofaciens* CMUAc130 and their antifungal activity. *Microbiology*, 151, p. 1691-1695.

Tahvonen R & Avikaiken H 1987 The biological control of seed-borne *Alternaria brassicicola* of cruciferous plants with powdery preparation of *Streptomyces* sp. *J. Agricult Sci Finland.* 59, p. 199-208.

Takahashi Y & Omura S 2003 Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *J Gen Appl. Microbiol.* 49, p. 141-154.

Takeuchi S, Hyayama K, Ueda K, Sakai H & Yonehara H 1958 Blasticidin S, a new antibiotic. *J Antibiot.* 11, p. 1-5.

Tanaka Y & Okuda S 1992 Insecticides, Acaricides and Anticoccidial Agents. In: *The Search for Bioactive Compounds from Microorganisms*. Omura S (ed.) Part 5, Cap. 13. Springer-Verlag, New York.

Tian XL, Cao LX, Tan HM, Zeng QG, Jia YY, Han WQ & Zhou SN 2004 Study on the communities of endophytic fungi and endophytic actinomycetes from rice and their antipathogenic activities in vitro. *World J Microbiol Biotechnol.* 20, p. 303-309.

Tokala RK, Strap JL, Jung CM, Crawford DL, Salove MH, Deobald LA, Bayle JF & Morra MJ 2002 Novel Plant-Microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC 108 and the pea plant (*Pisum sativum*). *Appl Environ Microbiol*, 68, p. 2161-2171.

Trejo-Estrada SR, Sepulveda IR & Crawford DL 1998 *In vitro* and *in vivo* antagonism of *Streptomyces violaceusniger* YCED9 against fungal pathogens of turfgrass. *World J. Microbiol & Biotechnol* 14, p. 865-872.

Utkhede RS & Koch CA 2004 Evaluation of biological and chemical treatments for control of gummy stem blight on cucumber plants grown hydroponically in greenhouses. *BioControl* 49, p. 109-117.

Van Driesche RG & Bellows TS 1996 *Biological Control*. New York, Chapman And Hall. 539p.

Wesseles JGH, Mol PC, Sietsma JH & Vermeulen CA 1990 Wall structure, wall growth, and fungal cell morphogenesis. In: *Biochemistry of cell walls and membranes in fungi*. Kuhn PJ, Trinci APJ, Goosey MW & Copping LG (eds.). Springer-Verlag, Berlin, p. 81-95.

Yamada O, Kaise Y, Futatsuya F, Ishida S, Ito K, Yamoto H & Munakata K 1972 Studies on plant growth regulating activities of anisomycin and toyocamycin. *Agric. Biol. Chem.* 36, p. 2013-2015.

Yin SY, Chang JK & Xun PC 1965 Studies in the mechanisms of antagonistic fertilizer "5406". IV. The distribution of the antagonist in soil and its influence on the rhizosphere. *Acta Microbiol Sin.* 11, p. 259-288.

Yone-Hara, Seto H, Shimazu A, Hidaka T, Kakinuma K & Otake N 1973 Production, isolation and biological properties of deroxin complex. *Agr. Biol. Chem.* 37, p. 2771.

Yuan WM & Crawford DL 1995 Characterization of *Streptomyces lydicus* YEC108 as a potential biocontrol agent against fungal and seed rots. *Appl Environ Microbiol.* 61, p. 3119-3128.