

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRO REITORIA DE PESQUISA E POS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO DE PESQUISA

ANTAGONISMO AO FITOPATÓGENO *COLLETOTRICHUM*  
*GUARANICOLA* E IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE  
ACTINOMICETOS ENDOFÍTICOS DO GUARANAZEIRO

Bolsista: Ana Cecília Nina Lobato, FAPEAM

MANAUS

2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRO REITORIA DE PESQUISA E POS GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO A PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTIFICA

RELATORIO FINAL

PIB – B – 0081/2011

ANTAGONISMO AO FITOPATÓGENO *COLLETOTRICHUM*  
*GUARANICOLA* E IDENTIFICAÇÃO TAXONÔMICA DE  
ACTINOMICETOS ENDOFÍTICOS DO GUARANAZEIRO

Bolsista: Ana Cecília Nina Lobato, FAPEAM

Orientador: Prof. MSc Ítalo Thiago Silveira Rocha Matos

MANAUS

2012

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao Núcleo de Biotecnologia Molecular e aos seus autores. Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida pelo Núcleo de Biotecnologia Molecular e se caracteriza como um sub projeto do projeto de pesquisa Guaraná.

## Resumo

Conhecido popularmente como guaraná, *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Martius) Ducke, é uma planta com hábito trepador da tribo Paullinieae, família Sapindaceae, que possui um alto valor econômico para o Brasil, na indústria farmacêutica e de alimentos. Podendo atingir até dez metros de altura em floresta nativa, sendo cultivado em áreas de plantio até maio ou menos três metros de altura. Nosso país é o principal produtor de guaraná, tendo em destaque o Estado do Amazonas e algumas regiões da Bahia, porém doenças causadas por fitopatogenos acabam influenciando no declínio da produtividade, principalmente no município de Maués, onde as condições de temperatura e umidade são favoráveis ao aparecimento dos mesmos. Dentre essas doenças a de principal importância econômica é a Antracnose causada pelo fungo *Colletotrichum guaranicola*, que ocasiona desde necrose nos limbos pecíolos e folhas, redução da capacidade fotossintética até a morte da planta. Actinomicetos são bactérias Gram positivas que se assemelham morfológicamente a fungos. Alguns estudos demonstraram que esses microrganismos vivem em diversos habitats, onde influenciam no crescimento e na proteção de raízes ao colonizarem em seu interior, produzindo metabolitos que inibem outros microrganismos podendo assim ser utilizados no controle biológico de plantas. Com o intuito de pesquisar um controle biológico para a antracnose, foram realizadas quarenta coletas, sendo vinte no Município de Maués nos meses de agosto a setembro de 2010 e dezembro a janeiro de 2011, e vinte na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas – UFAM, nos meses de agosto a setembro de 2010 e dezembro a janeiro de 2011, após esta coleta as amostras foram encubadas em placas de petri, sendo feitas observações diárias para a identificação de colônias de actinomicetos, a seguir realizou-se testes de antagonismos, onde foi inoculado em mesma placa actinomicetos e o patógeno. Das trinta e uma linhagens armazenadas vinte e seis foram capazes de inibir o agente causador da antracnose. Posteriormente foram feitos testes de amilase. O estudo revelou que *in vitro* actinomicetos são capazes de realizar o controle biológico da antracnose. Porém, vale ressaltar que seria necessária uma avaliação mais profunda a campo, em condições não controladas, verificando desta forma a intensidade da doença após a inoculação das colônias.

**Palavras chave:** Guaraná, Estado do Amazonas, Bahia, Doenças, Fitopatogenos, Produtividade, Antracnose, Actinomicetos, Controle Biológico, Antagonismo, *In Vitro*.

## **Abstract**

Popularly known as guarana, *Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Martius) Ducke, is a plant with climbing habit of the tribe Paullinieae, Sapindaceae family, which has a high economic value for Brazil in the pharmaceutical and food industries. It can reach up to ten meters high in native forest and is cultivated in areas of planting until May about three feet tall. Our country is the leading producer of guarana, and highlighted the state of Amazonas and some regions of Bahia, but diseases caused by pathogens end up influencing the decline in production, especially at Maués municipality, where conditions of temperature and humidity are favorable to appearance thereof. Among these diseases the one with major economic importance is the Anthracnose caused by the fungus *Colletotrichum guaranicola*, which causes necrosis in limbo long petioles and leaves, reducing photosynthetic capacity of the plant to death. Actinomycetes are Gram positive bacterias that resemble morphologically to fungi. Some studies have shown that these organisms live in different habitats, which influence the growth and protection of roots to colonize inside, producing metabolites that inhibit other microorganisms and thus be used in biological control of plants. In order to search for a biological control for anthracnose, forty collections were made, twenty in the city of Maués among August and September 2010 and December-January 2011, and twenty at the Experimental Farm of the Federal University of Amazonas - UFAM among August to September of 2010 and December-January 2011, after the collection the samples were incubated in petri dishes, and made daily observations for the identification of colonies of actinomycetes, then tests of antagonism were done, where was inoculated in same plate actinomycetes and the pathogen. The thirty-one lines stored twenty-six were able to inhibit the causative agent of anthracnose. Subsequently amylase tests were made. The study revealed that in vitro actinomycetes are capable of performing the biological control of anthracnose. It is worth mentioning that it is needed further evaluation in the field, in uncontrolled conditions, thus verifying the amount of disease after inoculation of the colonies.

**Keywords:** Guarana, State of Amazonas, Bahia, diseases, pathogens, Productivity, Anthracnose, actinomycetes, Biological Control, Antagonism, In Vitro.

## LISTA DE SIGLAS

Ceplac – Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

FAPEAM – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas

IBGE – Instituto Brasileiro de Pesquisa e Estatística

PCR – Reação em Cadeia de polymerase

UFAM – UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Vista aérea da cidade de Maués – AM	14
Figura 2 – Área experimental da Fazenda – AM	14
Figura 3 – Ensaio sobre avaliação da atividade antagônica	14
Figura 4: Gel da PCR	19
Figura 5: Gel da PCR	19

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Actinomicetos utilizados nos testes de antagonismo	17
Tabela 2 – Actinomicetos utilizados nos testes de amilase	18



## SUMÁRIO

Introdução	10
Fundamentação Teórica	12
Descrição Metodológica	14
Resultados Finais	17
Conclusões e Recomendações	20
Anexo 1	21
Anexo 2	26
Referencias Bibliográficas	30

## Introdução

*Paullinia* constitui um grupo de plantas pertencentes à tribo Paullinie Sapindaceae. Esta é a única tribo da família com hábito trepador. Dentro deste gênero, encontra-se o guaranazeiro (*Paullinia cupana* var. *sorbilis* (Martius) Ducke), espécie com grande importância econômica para o Brasil, utilizado na indústria de bebidas, alimentos e farmacêutica. Em florestas nativas pode atingir dez metros de altura, embora em áreas de plantio não cresçam mais do que três metros (Freitas et al., 2007).

O Brasil é o único país a produzir guaraná em escala comercial. Segundo estimativas, a área cultivada em 1999 era de 14.094 ha, dos quais 7.756 localizados no estado do Amazonas. A guaranicultura tem importante papel econômico e cultural para populações humanas nativas da Amazônia central. No entanto, a produção é ameaçada por diversas patologias (Bentes e Matsuoka, 2002). Entre estas, a mais importante é a antracnose, causada pelo fungo *Colletotrichum guaranicola* (Araújo et al., 2007).

A microbiota endofítica constitui um nicho rico em espécies que podem, direta ou indiretamente, promover crescimento, desenvolvimento e proteção à planta (Hanada et al., 2010). Algumas espécies de plantas superiores podem possuir, em um único tipo de tecido saudável, mais de 100 espécies diferentes de microrganismos (Sieber, 2007). Diversos trabalhos associam microrganismos endofíticos à produção e transformação de metabólitos vegetais, quer do metabolismo primário, quer do secundário (Rodríguez et al., 2010).

Actinomicetos são bactérias Gram positivas, aeróbias, pertencentes à ordem Actinomycetales, classe Actinobacteria, caracterizadas por produzir um extenso substrato ramificado e micélio aéreo (Cuesta et al., 2010). Estudos sobre ecologia de actinomicetos têm demonstrado abundância deste grupo em diversos habitats como solos de florestas, areia em zonas litorâneas, áreas de plantio agrícola, cavernas subterrâneas e o gelo subglacial da Antártica (Jayasinghe e Parkinson, 2008). Cao et al. (2004) descrevem estas bactérias como importantes componentes da microbiota edáfica, sendo melhores conhecidos por sua habilidade em produzir antibióticos. Desempenham um importante papel na rizosfera, onde influenciam o crescimento da planta e protegem as raízes da invasão por fungos patogênicos (Crawford et al., 1993).

Actinomicetos endofíticos são assim referidos por colonizarem o interior de tecidos sadios de plantas. A primeira referência a este grupo deu-se em 1964, quando exemplares do gênero *Frankia*, capazes de induzir a formação de nódulos para assimilação de nitrogênio em plantas não leguminosas, foram classificados como actinomicetos (Benson & Silvester 1993). Estes apresentam vantagem em relação às espécies da rizosfera, já que não estão expostos à competição com as demais bactérias do solo e colonizam os tecidos vegetais com sucesso, podendo ser considerados potenciais agentes de controle biológico (Cao et al., 2004). De acordo com Hwang et al. (2001), cerca de 60% dos antibióticos desenvolvidos para agricultura e horticultura foram isolados de actinomicetos do gênero *Streptomyces*.

O potencial dos actinomicetos em produzir metabólitos capazes de inibir outros microrganismos é amplamente conhecido e explorado. No entanto, o referido potencial do guaranazeiro na Amazônia central segue não esclarecido. Por meio deste plano de atividades, parte deste potencial tornar-se-á conhecido, lançando bases para trabalhos futuros.

A partir do isolamento e identificação actinomicetos endofíticos do guaranazeiro coletados no município de Maués (AM) e na Fazenda Experimental da UFAM será possível avaliar atividade antagônica dos isolados e efetuar sua identificação taxonômica, visando diminuir os impactos causados pela antracnose.

## Fundamentação Teórica

Tendo grande importância econômica para o Brasil, por ser utilizado na indústria para fabricação de refrigerantes, xaropes, sucos, pó e bastões, de peças artesanais e na indústria farmacêutica o guaraná (*Paullinia cupana*, variedade *sorbilis* (Martius) Duke) que antes era cultivado em maior quantidade no município de Maués, vem perdendo cada vez mais seu mercado para a Bahia, isso se deve as condições nas quais a planta se desenvolve.

Segundo IBGE (2004) A produtividade dos plantios da Bahia é muito superior, visto que a região reúne condições mais propícias ao desenvolvimento da planta, com boa distribuição de chuvas ao longo do ano, solos de maior fertilidade e baixa incidência de doenças, além de usar tecnologias geradas pelos pesquisadores da Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (Ceplac).

Dentre as doenças que mais atingem a produção do guaraná a antracnose causada pelo *Colletotrichum guaranicola* é de maior importância econômica, por causar necrose dos limbos e pecíolos das folhas e das hastes no início de desenvolvimento, adquirindo coloração marrom-avermelhada, tornando os folíolos quebradiços, à medida que secam, além de ocasionar lesões e até mesmo a morte da planta. A medida de controle contra essa doença vai desde a inspeção e eliminação de plantas que possivelmente estejam com antracnose até o cultivo de variedades resistentes e a utilização de fungicidas, este último por sua vez torna-se perigoso, uma vez que a aplicação de doses inadequadas pode prejudicar até mesmo a saúde humana.

Microrganismos endófitos são conhecidos por viverem no interior de plantas, diferindo de microrganismos fitopatógenos por não causarem doença nas mesmas. (Segundo Taidés Tavares dos Santos et. al. 2011) além de exercerem diversas funções de importância para o hospedeiro, esses microrganismos são potencialmente úteis na agricultura e na indústria, sobretudo na farmacêutica e de defensivos agrícolas.

Desta forma pode-se ter uma alternativa na utilização de fungicidas e inseticidas, principalmente porque esses microrganismos favorecem a preservação do meio ambiente ao exercer um controle natural, até mesmo biológico através de substâncias como enzimas. A utilização desses microrganismos tem sido frequentemente relatada na literatura científica.

Sendo um grupo de organismos que possuem tanto características de fungo, quanto de bactérias (por apresentarem filamentos ramificados) os actinomicetos são responsáveis pela degradação de substâncias normalmente não decompostas por fungos e bactérias (Borém, 1998). Por degradar celulose e proteínas em condições em que se possui um ambiente com temperatura relativamente elevada, esses microrganismos se transformam em importantes fontes de energia, podendo ainda realizar pequenas taxas de imobilização do nitrogênio.

A capacidade que actinomicetos tem através de metabolitos de inibir outros microrganismos é conhecida e explorada. Segundo Siqueira e Franco (1988), os actinomicetos produzem antibióticos que controlam o equilíbrio microbiano do solo, controlam fungos e bactérias fitopatogênicos, como por exemplo, actinomicetos do gênero "*Frankia*", que formam nódulos e fixam nitrogênio em simbiose com plantas dos gêneros "*Alnus*", "*Casuarina*" e "*Myrica*". Porém esse potencial age diferentemente em cada planta, sendo desta forma não esclarecido no guaraná.

## Descrição Metodológica

Os explantes de guaranazeiro foram coletados em áreas de plantio no município de Maués (03°26'54.63"S 57°38'54.84"W) e na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas (02°39'04.13"S 60°03'18.74"W), sendo coletadas ao todo vinte amostras em cada estação de coleta, a saber, dez amostras de espécimes sadios e dez de espécimes acometidos por antracnose.



Figura 1: Vista área do município de Maués – AM

Figura Fonte: <http://www.prontopruguerra.com.br>

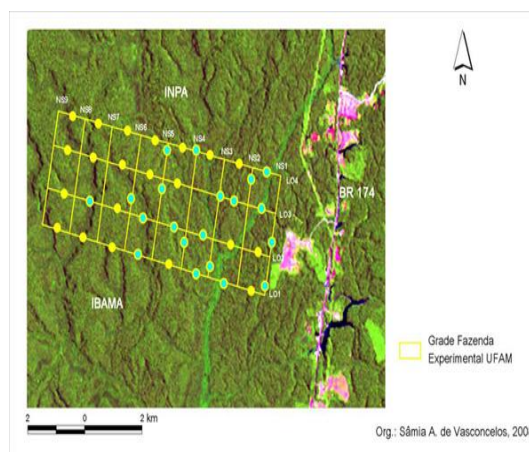


Figura 2: Área experimental da Fazenda – AM

Fonte: <http://ppbio.inpa.gov.br/Port/inventarios/ufam>

As folhas foram lavadas em água corrente para a remoção de macropartículas, sendo imersas em etanol 70% por 5 minutos e hipoclorito de sódio (1,0 %) por 20 minutos. Os agentes de esterilização superficial foram removidos por três lavagens consecutivas em água destilada autoclavada (Cao et al., 2004). As amostras foram lavadas em solução de NaHCO<sub>3</sub> 10% para disrupção dos tecidos vegetais e inibição de fungos filamentosos. Pequenos fragmentos (1,0 cm<sup>2</sup>) foram inoculados em Agar Amido Caseína (Amido 10 g/L, Caseína 0,3 g/L, KNO<sub>3</sub> 2,0 g/L, NaCl 2,0 g/L, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2,0 g/L, MgSO<sub>4</sub> 0,05 g/L, CaCO<sub>3</sub> 0,02 g/L, FeSO<sub>4</sub> 0,01 g/L, Ágar 25 g/L), suplementado com 15 µM/mL de Ácido Nalidíxico para inibição de bactérias competidoras (Cuesta et al., 2010; Matsuura, 2004).

As placas foram incubadas a 28 °C por até 20 dias, observadas diariamente para identificação de colônias típicas de actinomicetos. Sendo repicadas para placas contendo Agar Malte Extrato de Leveduras para purificação das colônias.

A atividade antagônica foi avaliada conforme metodologia descrita por (Cao et al. 2004), inoculando-se fragmentos de micélio de *Colletotrichum guaranicola* e de

actinomiceto isolado em polos opostos de placas de Petri contendo Agar Batata Dextrose (pH 7,0). As placas foram incubadas a 30 °C observadas em um período de cinco dias para detecção de halos de inibição. Após a detecção da atividade antagônica, as colônias foram preservadas para estudos posteriores. Sendo os ensaios realizados em duplicata

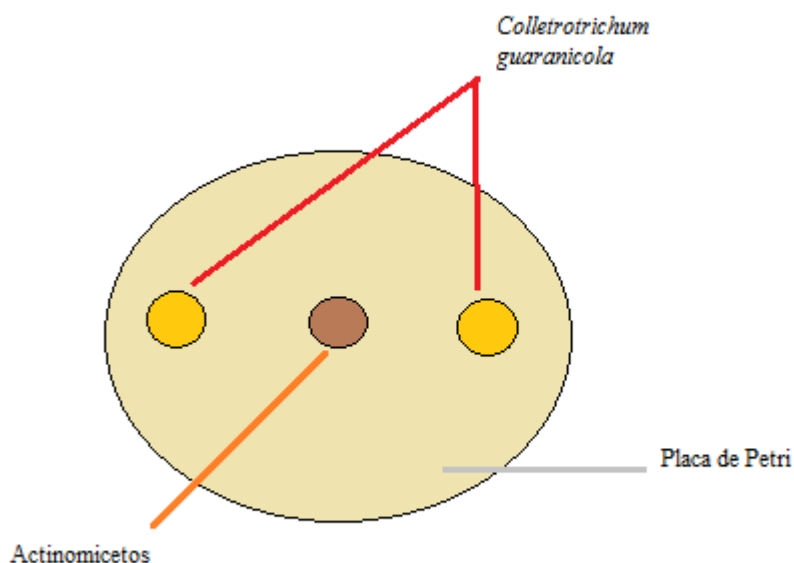


Figura 3: Ensaio sobre avaliação da atividade antagônica

A extração de DNA foi realizada diretamente da colônia. Em eppendorf de 0,5 microlitros, foram colocados 250 microlitros de água Milli-Q, juntamente com uma alçada contendo a colônia de actinomicetos. Após esse procedimento, foi realizado o processo de desnaturação da colônia utilizando o programa DENACT (temperatura de 90° C por 15 minutos).

As reações de PCR foram compostas de 10 ng de DNA genômico, 2,5 mM de cada dNTP, 5pmol de cada primer, 5 U de *Taq* polimerase (Amersham Biosciences), 10X tampão de *Taq* polimerase. (Amersham Biosciences), em volume final de reação de 25 µL. As condições de amplificação consistiram de uma etapa inicial de desnaturação com um ciclo a 95 °C por 5 minutos, seguido de uma etapa de anelamento e extensão com 40 ciclos a 72 °C durante 1 minuto, 72° C por 1 minuto, 72° C por 5 minutos e um ciclo final de extensão a 4°C por 5 minutos. Os produtos de PCR foram submetidos a

eletroforese em gel de agarose 1,2%, corados com brometo de etídio (10 µg/mL) e fotografados sob luz ultra-violeta.

As colônias foram preservadas por meio das técnicas de Castellani e em Glicerol a 25%, conforme descrito por Rodrigues et al. (1992).



## Resultados

Dos actinomicetos isolados dos explantes de guaranazeiro coletados da Fazenda experimental da UFAM foram realizados 31 testes de antagonismo em duplicata, utilizando culturas pareadas de actinomicetos e *Coletotrichum guaranicola* em meio Sabouraud (28 °C, 5 a 10 dias). Ao todo, 26 linhagens foram capazes de inibir *C. guaranicola*. (Ver anexo I)

Tabela 1: Actinomicetos utilizados nos testes de antagonismo

Isolado	Antagonismo a <i>Coletotrichum guaranicola</i>
Actinomiceto A1	+
Actinomiceto A2	+
Actinomiceto G01	+
Actinomiceto G02	-
Actinomiceto G03	+
Actinomiceto G04	+ - <sup>*</sup>
Actinomiceto G05	-
Actinomiceto G06	+
Actinomiceto 02	+ - <sup>*</sup>
Actinomiceto 03	+
Actinomiceto 04	+
Actinomiceto 05	+
Actinomiceto07	+
Actinomiceto 08	+
Actinomiceto 10	+
Actinomiceto 11	+
Actinomiceto 12	+
Actinomiceto 13	+
Actinomiceto 14	+
Actinomiceto 15	+
Actinomiceto 19	+
Actinomiceto 23	+

Actinomiceto 24	+
Actinomiceto 25	+
Actinomiceto 29	+
Actinomiceto 31	+
Actinomiceto 32	+ -*
Actinomiceto 34	+
Actinomiceto 45	+ -*
Actinomiceto 52	+

\* Os actinomicetos G04, 02, 32, 45 foram submetidos a novos testes de antagonismo somente os isolados G04 e 32 apresentaram resultados positivos

Alguns Actinomicetos como o A1 e o A2 apresentaram inibição por contato, isso se deve a substâncias expelidas para a parede celular do *Colletotrichum guaranicola*. Diferentemente de outros isolados como os Actinomicetos 23 e 29 (Ver anexo I, figuras 10 e 5) que liberam substâncias ao meio.

Os testes qualitativos de secreção de amilase foram realizados pela técnica cup-plate, submetendo as placas a vaporização de iodo ressublimado para verificação de halos que indicassem atividade amilolítica. Os ensaios foram feitos em duplicata. De um total de 20 linhagens testadas, 16 apresentaram resultado positivo. (Ver anexo 2).

Tabela 2: Actinomicetos utilizados nos testes de amilase

Isolado	Presença de Amilase
Actinomiceto G01	-
Actinomiceto G02	-
Actinomiceto G05	+
Actinomiceto G06	+
Actinomiceto 04	+
Actinomiceto 05	+
Actinomiceto 08	+
Actinomiceto 11	+
Actinomiceto 12	+
Actinomiceto 13	+
Actinomiceto 15	+

Actinomiceto 19	-
Actinomiceto 21	-
Actinomiceto 23	+
Actinomiceto 24	+
Actinomiceto 25	+
Actinomiceto 26	+
Actinomiceto 29	+
Actinomiceto 31	+
Actinomiceto 32	+

Antes de começarmos as reações de PCR percebemos que os Actinomicetos 2, G01, G02, G04, G05, G06, 25 e 45, eram os mesmos que os Actinomicetos 2, 6, 29, 32, 34 e 52 totalizando assim 23 amostras. As mesmas foram utilizadas para a reação, durante os meses de março, abril, maio e junho, porem quando os produtos de PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose corados com brometo de etídio e fotografados sob luz ultra-violeta. Os resultados esperados não apareceram.

A principal dificuldade foi o encontro da temperatura ideal de anelamento, sendo assim a reação de PCR e o sequenciamento não foi concluída, diversas temperaturas foram e ainda serão testadas, sendo também realizada a busca de outras possíveis técnicas para a extração de DNA genômico.

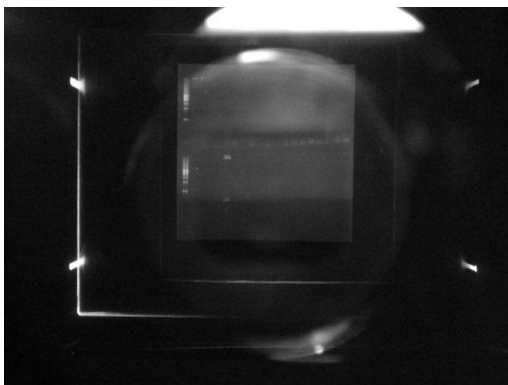


Figura 4: Gel da PCR  
Foto: Ana Cecilia

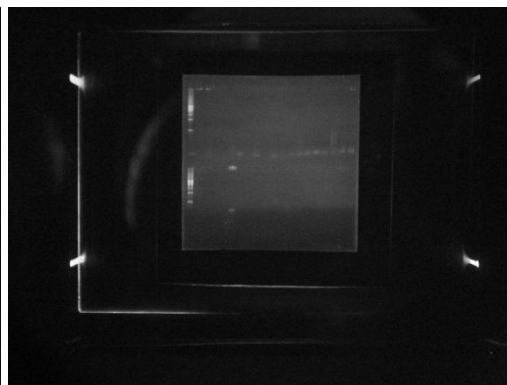


Figura 5: Gel da PCR  
Foto: Ana Cecilia

## Conclusões e Recomendações

Os ensaios dos testes de antagonismo, revelaram que o mesmo é capaz inibir o crescimento do fitopatogênico *Colletotrichum guaranicola*, sendo assim possível afirmar que a utilização desses microrganismos no controle biológico aliada a outras técnicas de controle como, por exemplo, a inspeção periódica do guaranazal para eliminar plantas altamente infectadas, poda e queima dos ramos afetados antes da aplicação de fungicidas, adubação equilibrada para proporcionar maior vigor as plantas, plantio de variedades resistentes, seleção de plantas mais vigorosas e propagação de semente dessas matrizes (Manual de fitopatologia, volume 3) podem diminuir a antracnose do guaraná, além de diminuir o uso de agrotóxicos utilizado no controle desta doença.

É muito importante ressaltar que seria necessária uma avaliação mais profunda a campo, em condições não controladas, verificando desta forma a intensidade da doença após a inoculação das colônias de actinomicetos. Além da identificação taxonômica dos mesmos para que tenhamos um resultado mais preciso, juntamente com a descoberta dos principais metabólitos responsáveis pela inibição do patógeno.

Anexo 1



Figura 6: Actinomiceto 10

Foto: Ana Cecília



Figura 7: Actinomiceto 29

Foto: Ana Cecília



Figura 8: Actinomiceto 34

Foto: Ana Cecília

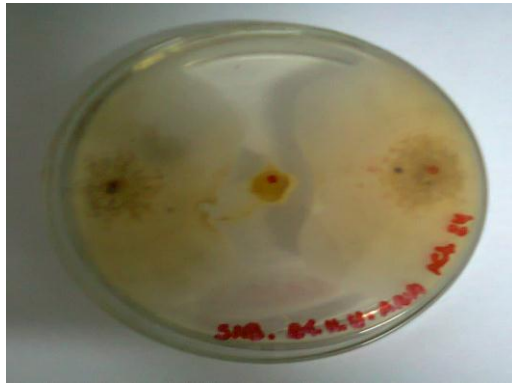


Figura 9: Actinomiceto 24

Foto: Ana Cecília



Figura 10: Actinomiceto 23

Foto: Ana Cecília

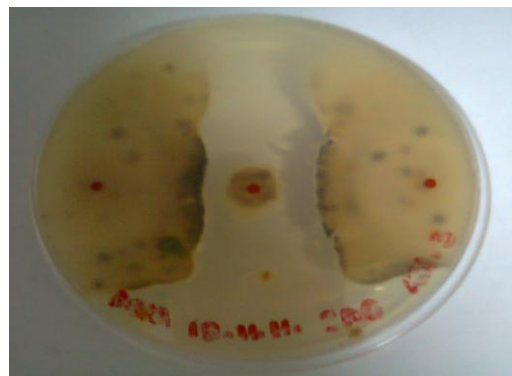


Figura 11: Actinomiceto 03

Foto: Ana Cecília

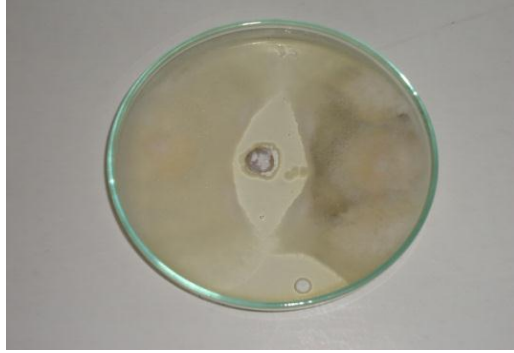


Figura 12: Actinomiceto13  
Foto: Ana Cecília

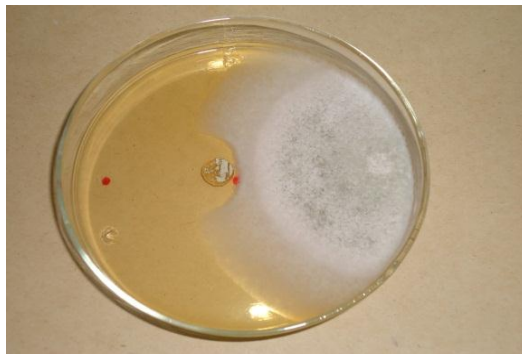


Figura 13: Actinomiceto 04  
Foto: Ana Cecília

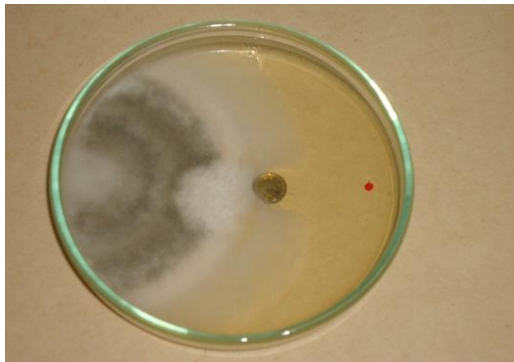


Figura 14: Actinomiceto19  
Foto: Ana Cecília



Figura 15: Actinomiceto15  
Foto: Ana Cecília



Figura 16: Actinomiceto 08  
Foto: Ana Cecília



Figura 17: Actinomiceto 32  
Foto: Ana Cecília



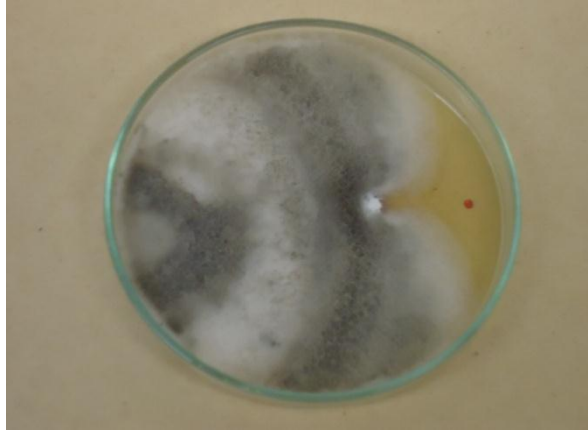


Figura 18: Actinomiceto 12  
Foto: Ana Cecília

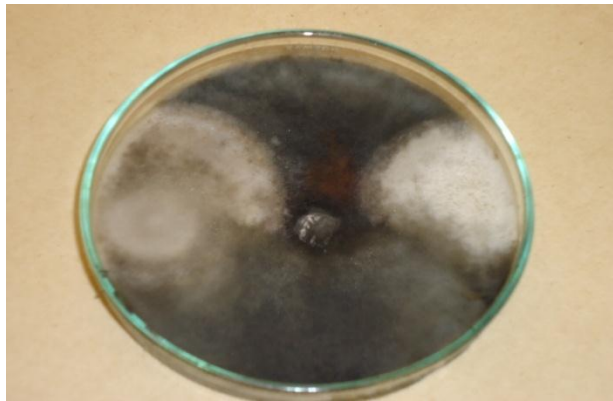


Figura 19: Actinomiceto 32  
Foto: Ana Cecília

## Anexo 2

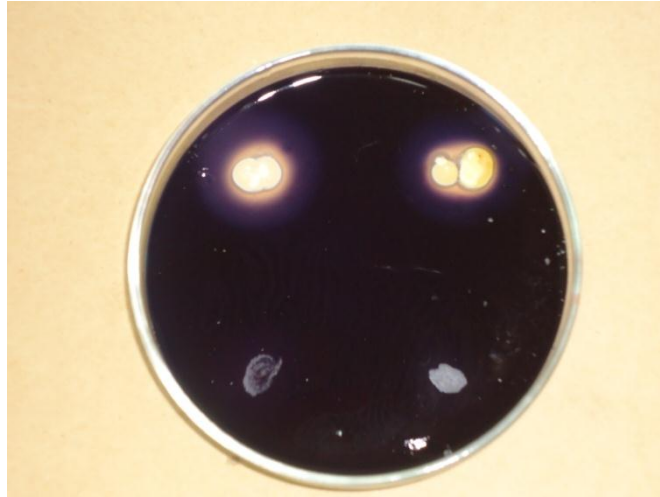


Figura 20: Actinomiceto 11(em cima) e Actinomiceto15 (em baixo)

Foto: Ana Cecília

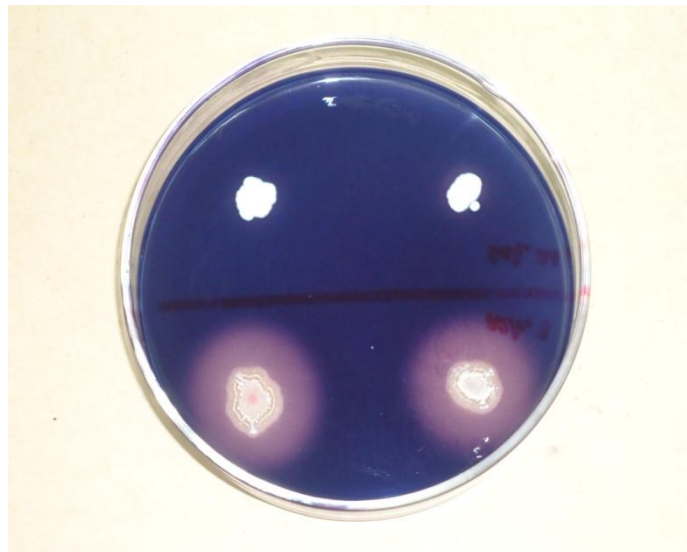


Figura 21: Actinomiceto 08(em cima) eActinomiceto 32 (em baixo)

Foto: Ana Cecília

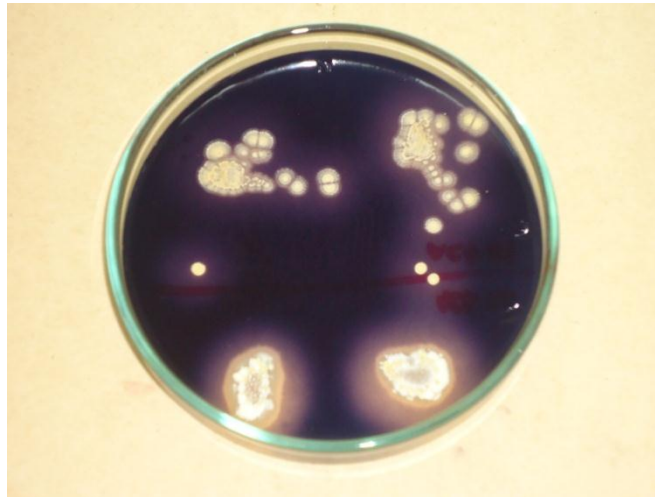


Figura 22: Actinomiceto 04 (em cima) e Actinomiceto12 (em baixo)  
Foto: Ana Cecília

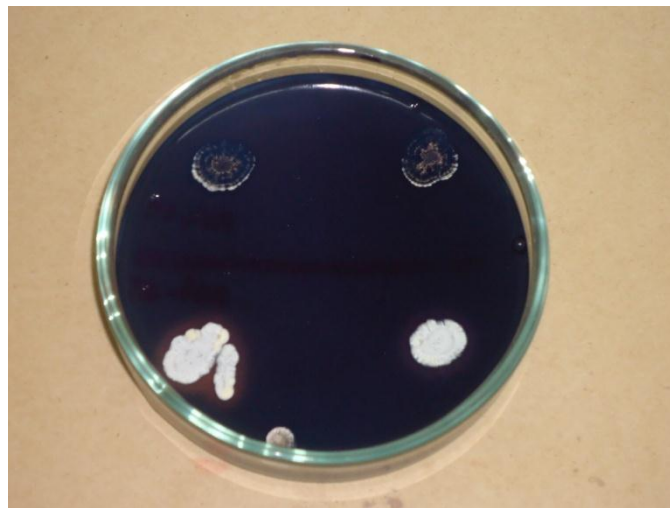


Figura 23: Actinomiceto 19 (em cima) eActinomiceto 20 (em baixo)  
Foto: Ana Cecília

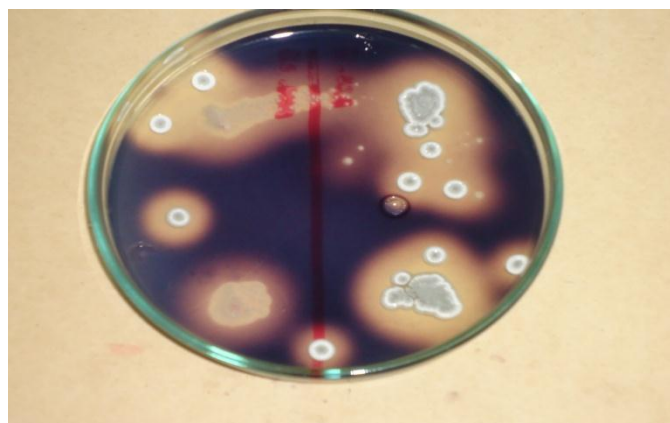


Figura 24: Actinomiceto 05 (em cima) e Actinomiceto 13 (em baixo)  
Foto: Ana Cecília

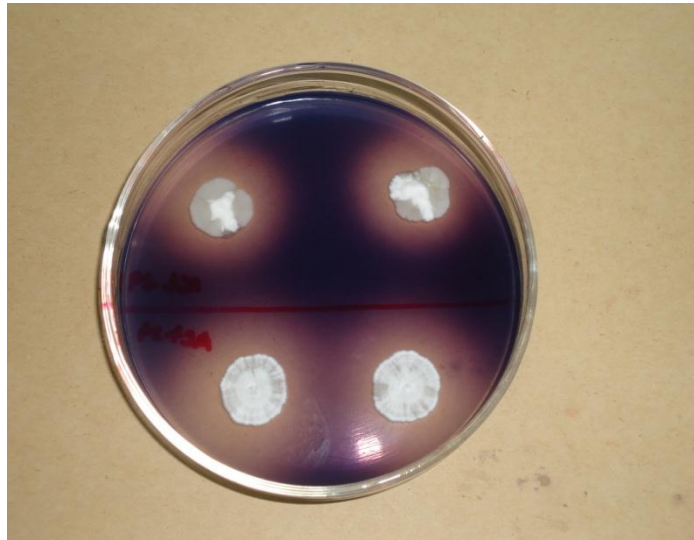


Figura 25: Actinomiceto 29(em cima) e Actinomiceto 34 (em baixo)  
Foto: Ana Cecília



Figura 26: Actinomiceto 31 (em cima) e Actinomiceto 25 (em baixo)  
Foto: Ana Cecília



Figura 27: Actinomiceto 21 (em cima) e Actinomiceto 23 (em baixo)

Foto: Ana Cecília



Figura 28: Actinomiceto G01 (em cima) e Actinomiceto G05 (em baixo)

Foto: Ana Cecília

## Referencias Bibliográficas

- ARAUJO, J.C.A.; PEREIRA, J.C.R.; GASPAROTO, L.; ARRUDA, M.R.; MOREIRA, A. Antracnose do Guaranazeiro e seu Controle. **Comunicado Técnico – EMBRAPA**. Manaus: 2007.
- BENSON, D.R.; SILVESTER, W.B. Biology of *Frankia* strains actinomycete symbionts of actinorhizal plant. **Microbiological Reviews**. 57: 293–319. 1993.
- BENTES, J.L.S. & MATSUOKA, K. Histologia da interação *Colletotrichum guaranicola* e *Paullinia cupana* var. *sorbilis* em clones resistente e suscetível. **Fitopatologia Brasileira** 27: 071-077. 2002.
- CAO, L.; QIU, Z.; DAI, X.; TAN, H.; LIN, Y.; ZHOU, S. Isolation of endophytic actinomycetes from roots and leaves of banana (*Musa acuminata*) plants and their activities against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. 20: 501–504, 2004.
- CRAWFORD, D.L.; LYNCH, J.M.; WHIPPS, J.M.; OUSLEY, M.A. Isolation and characterization of actinomycete antagonists of a fungal root pathogen. **Applied and Environmental Microbiology**. 59, 3899–3905. 1993.
- CUESTA G.; GARCÍA-de-la-FUENTE, R.; ABAD, M.; FORNES, F. Isolation and identification of actinomycetes from a compost-amended soil with potential as biocontrol agents. **Journal of Environmental Management**. XXX: 1-5. 2010.
- FREITAS, D.V.; CARVALHO, C.R.; NASCIMENTO FILHO, F.J.; ASTOLFI-FILHO, S. Karyotype with 210 chromosomes in guaraná (*Paullinia cupana* „*Sorbilis*“). *J Plant Res* 120: 399–404. doi 10.1007/s10265-007-0073-4. 2007.
- HANADA, R.E.; POMELLA, A.W.V.; COSTA, H.S.; BEZERRA, J.L.; LOGUERCIO, L.L.; PEREIRA, J.O. Endophytic fungal diversity in *Theobroma cacao* (cacao) and *T. grandiflorum* (cupuaçu) trees and their potential for growth promotion and biocontrol of black-pod disease. **Fungal Biology**, 114, 901-910. 2010.

HWANG, B.K.; LIM, S.W.; KIM B.S.; LEE, J.Y. MOON, S.S. Isolation and in vivo and in vitro antifungal activity of phenylacetic acid and sodium phenylacetate from *Streptomyces humidus*. **Appl. Environ. Microbiol.** 67: 3739-3745. 2001.

JAYASINGHE, B.A.T.D.; PARKINSON, D. Actinomycetes as antagonists of litter decomposer fungi. **Applied Soil Ecology.** 38: 109–118. 2008.

MATSUURA, Takeshi. **Caracterização taxonômica de actinomicetos endofíticos produtores de antibióticos isolados de cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* Schum.)**. Campinas: UNICAMP, 2004. Tese de Doutorado em Ciências de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 2004.

RODRIGUES, E.G.; LIRIO, V.S.; LACAZ, C.S. Preservação de fungos e actinomicetos de interesse medico em água destilada. **Rev. Inst. Med. Trop.** 34(2): 159-165. 1992.

RODRÍGUEZ, P.; REYES, B.; BARTON, M.; CORONEL, C.; MENÉNDEZ, P.; GONZALEZ, D.; RODRÍGUEZ, S. Stereoselective biotransformation of  $\alpha$ -alkyl- $\beta$ -keto esters by endophytic bacteria and yeast. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic.** doi:10.1016/j.molcatb.2011.04.003. 2010.

SIEBER, T.N. Endophytic fungi in forest trees: are they mutualists? fungal biology reviews 21: 75–89. doi:10.1016/j.fbr.2007.05.004. 2007.

Manual de fitopatologia/editado por Hiroshi Kimari ... [et.al]. – 3. ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 1995-1997. 2v.:il. Doenças em plantas cultivadas.

Aplicação de microrganismos endofíticos na agricultura e na produção de substâncias de interesse econômico v. 32, n. 2 (2011). Disponível em <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/seminabio/article/view/8241>. Acesso em 23 de Janeiro de 2012

Actinomicetos. Disponível em: [http://www.redeambiente.org.br/dicionario.asp?letra=A&id\\_word=790](http://www.redeambiente.org.br/dicionario.asp?letra=A&id_word=790). Acesso em 24 de Janeiro de 2012

Guaraná. Disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/radar/guarana.htm>. Acesso em 24 de Janeiro de 2012.

Microrganismos Endofíticos. Disponível em:  
[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Azevedo\\_Microrganismosendofiticos\\_000fdrap80702wx5eo0a2ndxyo89f39n.pdf](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/Azevedo_Microrganismosendofiticos_000fdrap80702wx5eo0a2ndxyo89f39n.pdf). Acesso em 24 de Janeiro de 2012.

Sistema de Produção. Disponível em: [sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br](http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br). Acesso em 24 de Janeiro de 2012.