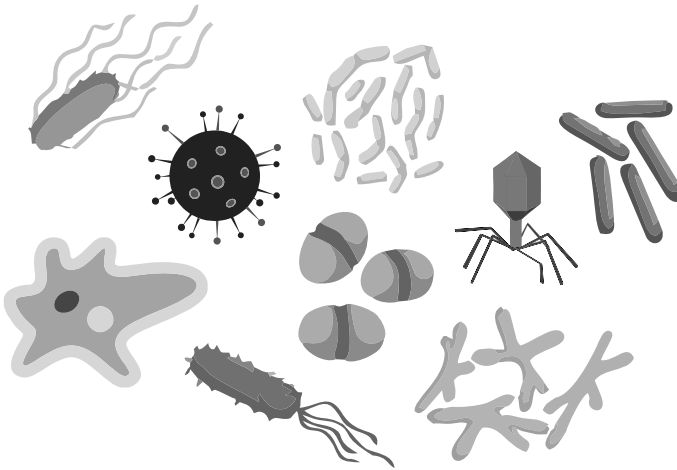
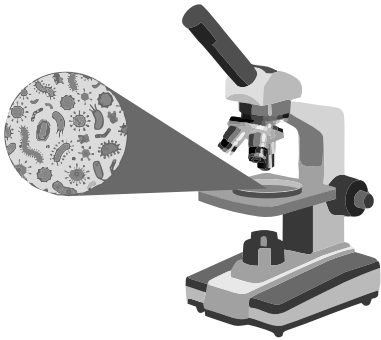


10 Recursos Genéticos Microbianos



*Jeri Edson Zilli
Mariangela Hungria
Luis Henrique de Barros Soares
Sueli Corrêa Marques de Mello
Christiane Abreu de Oliveira
Maria Elita Batista de Castro
João Batista Tavares da Silva
Gildo Almeida da Silva
Catia Silene Klein*

387 O que a microbiologia estuda?



A microbiologia é a ciência que estuda os organismos microscópicos, ou seja, aqueles que não são visíveis a olho nu e, portanto, precisam ser examinados com um microscópio sendo, por isso, denominados microrganismos. Incluem-se nesses estudos não apenas a morfologia dos microrganismos, mas também suas atividades metabólicas, suas relações com o ambiente, com outros microrganismos e outros seres vivos.

388 Quais são os principais grupos microbianos considerados recursos genéticos?

As bactérias, arqueobactérias, fungos, vírus, algas unicelulares e protozoários. Principalmente no caso de algas, fungos e protozoários, há exemplares que podem, inclusive, ser visíveis a olho nu, o que leva alguns microbiologistas a não ficarem restritos à definição de microrganismos com base no tamanho, mas sim nas propriedades que caracterizam cada grupo microbiano.

389 Onde os microrganismos são encontrados?

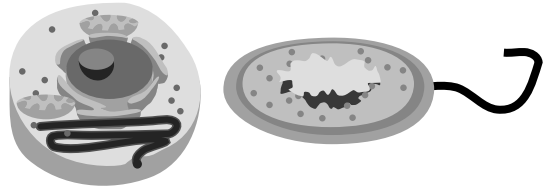
Os microrganismos existem em grande quantidade e diversidade no planeta. Estão presentes em todos os ambientes, tanto terrestres, como aquáticos. Podem ser encontrados também em ambientes extremos, como nas regiões polares, desertos, fundo de oceanos e vulcões. Não se pode esquecer que também estão presentes em todos os demais seres vivos, inclusive no homem. O corpo humano abriga bilhões de microrganismos, a grande maioria essencial a nossa sobrevivência e saúde.

390

Qual é a diferença entre microrganismos procariotos e eucariotos?

Essa classificação se refere ao tipo de célula dos microrganismos. Procariotos são microrganismos com menor grau de

evolução, porque não possuem núcleo organizado; as demais estruturas celulares são simples, por exemplo, bactérias. Os eucariotos apresentam uma membrana envolvendo o núcleo celular, chamada carioteca, mantendo-o organizado, e as estruturas celulares são mais complexas, como algas, fungos e protozoários.



391

Os vírus são de fato microrganismos?

Os vírus são de fato microscópicos, mas apresentam propriedades muito particulares, o que leva a uma discussão quanto a serem ou não microrganismos, ou mesmo seres vivos. Não possuem estrutura celular nem metabolismo próprio, necessitando das estruturas de células de um organismo hospedeiro para replicar seu material genético; e, por isso, são considerados parasitas intracelulares obrigatórios. Basicamente são formados de um só tipo de ácido nucleico, DNA ou RNA (podendo ser de fita simples ou dupla), e de uma cápsula proteica que envolve o ácido nucleico (capsídeo). Alguns vírus apresentam um envelope externo ao capsídeo formado de moléculas de lipídeos e glicoproteínas.

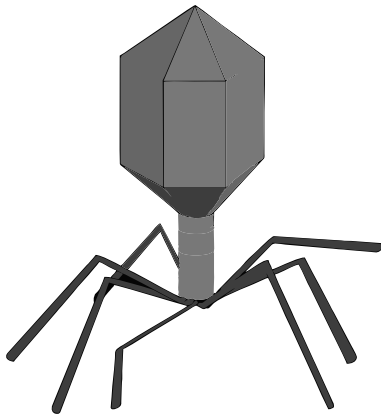
392

Então, qual é o conceito de espécie na taxonomia de vírus?

Em 2013, o International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) apresentou uma nova definição para o termo espécie viral (*virus species*): é um grupo monofilético, cujas propriedades são distinguidas de outros grupos por múltiplos critérios, interpretados como diversas características relacionadas à replicação, à faixa de

hospedeiros, ao tropismo por células e tecidos, à patogenicidade, ao modo de transmissão, à antigenicidade e ao grau de parentesco de seus genomas ou genes.

393 Existe especificidade de hospedeiros na infecção por vírus?



Existem alguns vírus que infectam tanto vertebrados quanto plantas, invertebrados, protistas, fungos e bactérias, porém a maioria infecta tipos específicos de hospedeiros e de células. A pesquisa sempre está mais concentrada na coevolução de vertebrados e plantas e seus vírus do que em invertebrados e seus vírus. Entretanto, os invertebrados são grandes transportadores de vírus, e essa associação evoluiu ao longo de

milhões de anos. A diversidade e a evolução dos vírus dependem em grande parte de como os vírus interagem com seus hospedeiros e de como os possíveis processos gerados dessas interações podem ter evoluído ao longo do tempo. Processos como mutações, recombinações, rearranjos genéticos ocasionados por coinfeções e fatores que influenciam na persistência e transmissão do vírus e na densidade e estrutura das populações (de vírus e de hospedeiros) são fontes de variabilidade genética que têm implicações significativas na diversificação, na capacidade de adaptação, na coevolução dos vírus e de seus hospedeiros e na especificidade na infecção.

394 Qual é o papel dos vírus no controle natural de populações de insetos?

Os vírus são inimigos naturais de fundamental importância no equilíbrio natural das populações dos insetos. Podem se disseminar muito rapidamente causando redução drástica, ou mesmo colapso dessas populações de maneira generalizada, trazendo impactos

significativos no tamanho de várias populações de insetos. Os vírus de insetos são específicos, altamente patogênicos, e seguros em relação à saúde e ao meio ambiente, por isso são considerados excelentes agentes de controle para uso em programas de manejo integrado de pragas. Um exemplo importante são os baculovírus, utilizados no controle biológico de pragas, principalmente lagartas, em culturas agrícolas e florestais.

395 Como os microrganismos impactam a humanidade?

Os microrganismos podem apresentar interações positivas ou negativas com os seres humanos. No caso de interações negativas, são denominados patógenos, podendo afetar a saúde humana, animal ou de plantas. Interações positivas também podem ocorrer com o homem, animais (por exemplo, flora intestinal), plantas (por exemplo, bactérias simbióticas fixadoras de nitrogênio). Atuam, ainda, na formação dos solos, nos ciclos dos nutrientes, na produção de alimentos, ou mesmo, em alguns casos, na produção de oxigênio e no consumo de gás carbônico na biosfera e nos oceanos. Portanto, o estudo desses microrganismos é de grande importância para a sobrevivência da humanidade, tanto em termos de alimentação, como de saúde.

396 O que se entende por recursos genéticos microbianos?

O termo recursos genéticos microbianos indica qualquer material genético com valor real ou potencial ao homem. Os recursos genéticos microbianos são reconhecidos como essenciais para o avanço do conhecimento nas áreas da saúde, da agropecuária, do ambiente, do processamento e da indústria de alimentos e de biotecnologia em geral.

397 Qual é a importância dos recursos genéticos microbianos para a agropecuária?

Na agropecuária, os microrganismos podem ser utilizados em uma ampla gama de aplicações. Exercem papel importante

na substituição parcial ou total de fertilizantes químicos, como promotores de crescimento de plantas e como agentes de controle biológico de pragas, doenças e plantas daninhas, impactando diretamente o desenvolvimento das plantas e a produção de alimentos na nutrição e saúde animal, na produção de probióticos, e no desenvolvimento de vacinas e de métodos de diagnóstico de doenças, no processamento e armazenamento de alimentos e em diversas outras aplicações, como biorremediadores de resíduos, além de servirem como fonte de genes para a biotecnologia.

398

Qual é a importância da preservação dos recursos genéticos diante do crescimento da biotecnologia e do desenvolvimento de organismos geneticamente modificados?

A busca por características interessantes e promissoras para o desenvolvimento de bioinsumos, aplicados aos setores farmacêutico, biomédico, alimentar e agropecuário, tende a se ampliar por meio da bioprospecção em coleções de culturas microbianas reconhecidas e com qualidade na gestão e preservação dos recursos genéticos oriundos dos mais diferentes biomas e ambientes. Plantas geneticamente resistentes a herbicidas à base de glifosato, e também tolerantes ao ataque de pragas, são bons exemplos da importância dos microrganismos. Essas plantas foram transformadas pela inserção de genes obtidos de *Agrobacterium tumefaciens* e *Bacillus thuringiensis*, respectivamente, que são microrganismos encontrados na natureza e preservados em diversas coleções mundo afora.

399

Quais são os impactos das mudanças climáticas globais sobre os recursos genéticos microbianos?

As mudanças climáticas decorrentes, principalmente, do aquecimento global podem influenciar os mecanismos evolutivos em longo prazo e também as interações e dinâmicas populacionais em médio prazo, por interferirem na estrutura e composição do ambiente em que os organismos vivem. Essas perturbações tornam

necessário o conhecimento e a preservação do que existe hoje em termos de diversidade de recursos genéticos. Do ponto de vista agrícola, os microrganismos que são eficientes hoje na promoção do crescimento de plantas e nas relações simbióticas para fixação biológica de nitrogênio, por exemplo, podem ser impactados por essas mudanças prováveis. Entretanto, certos grupos de microrganismos podem favorecer as plantas cultivadas quanto à resistência a certos patógenos e à adaptabilidade dessas plantas a ambientes e condições adversas, como estresse hídrico, por períodos prolongados. Assim, a bioprospecção de microrganismos que induzam respostas favoráveis para as culturas agrícolas é uma atividade extremamente importante no cenário das mudanças globais.

400 Como os recursos genéticos microbianos podem ser categorizados?

De forma geral, é possível separar os microrganismos pela forma como são explorados ou impactam a vida humana. Assim, em uma visão geral, os microrganismos podem ser classificados como promotores de crescimento de plantas (exemplo: fixadores de nitrogênio), fitopatogênicos (que causam doenças em plantas), patógenos de animais e do homem (causadores de doenças), biocontroladores (usados no controle biológico), biorremediadores (com funções ambientais, por exemplo, na biorremediação de áreas contaminadas), industriais (destinados à tecnologia de alimentos, por exemplo, na elaboração de vinhos, cervejas, queijos e pães).

401 Como assegurar a soberania nacional na questão dos recursos genéticos microbianos?

As atividades de coleta, identificação, caracterização e conservação, aliadas à avaliação do potencial de uso dos recursos genéticos microbianos, são atividades críticas para garantir a soberania nacional nessa questão. Recursos genéticos constituem patrimônio nacional e, se conservados adequadamente e bem explorados, podem gerar

riquezas para o País. As pesquisas com esses organismos constituem práticas indispensáveis ao desenvolvimento científico e tecnológico em vários setores da economia e, em especial, no setor agropecuário. Os microrganismos desempenham funções fundamentais na natureza; vale dizer que nossa vida na terra depende da existência desses seres microscópicos, responsáveis pela decomposição da matéria orgânica, ciclagem e mobilização de nutrientes. A sustentabilidade da agricultura depende grandemente das atividades de tais organismos, e, aparentemente, as regiões tropicais são detentoras da maior diversidade deles. Desse modo, não restam dúvidas de que a prospecção da biodiversidade microbiana, aliada à formação de coleções biológicas e sua conservação, é a garantia da permanência desses recursos biológicos para estudos de aplicações no agronegócio brasileiro e em outros setores produtivos relacionados.

402 Por que há necessidade de se manter um fluxo contínuo de coleta, isolamento, caracterização e avaliação de microrganismos para os diversos usos agrícola e ambiental?

Um aspecto fundamental no desenvolvimento de novos produtos é a descoberta de estirpes com maior atividade ou mais adaptadas às condições ambientais em que esses produtos serão utilizados. Características desejáveis nos organismos de interesse podem ser introduzidas ou potencializadas, utilizando-se técnicas biotecnológicas. Por isso, há necessidade de um esforço contínuo na busca de maior conhecimento da diversidade microbiana de interesse, sua conservação e disponibilização para a pesquisa.

403 Qual a segurança que existe nas coleções de cultura com relação aos riscos de se perder os recursos genéticos depositados?

A grande parte das coleções de cultura espalhadas pelo mundo realizam o depósito de microrganismos, oferecem serviços de identificação e realizam pesquisas e bioprospecção no material

depositado. Conseqüentemente, as equipes envolvidas nos trabalhos com recursos genéticos devem ser continuamente treinadas e capacitada para tal fim. Em coleções adequadamente planejadas e estruturadas, existem áreas especialmente preparadas para estocagem e preservação microbiana. Além disso, é indispensável a existência de uma coleção de cópia, ou *backup*, contendo os mesmos acessos, mas em uma área separada, em espaço físico distinto, para o caso de ocorrer algum acidente com o material original.

404 A Embrapa possui coleções de culturas de microrganismos?

A Embrapa tem realizado esforços para a criação e manutenção de coleções de microrganismos de interesse do agronegócio, alocando recursos humanos especializados e infraestrutura adequada. Nesse contexto, a Embrapa possui diversas coleções de culturas setORIZADAS, como:

- Microrganismos multifuncionais – incluindo diversas coleções de microrganismos promotores do crescimento de plantas, fungos micorrízicos e microrganismos de importância ambiental.
- Microrganismos para biocontrole – bactérias, fungos e vírus de invertebrados utilizados para o controle biológico de pragas e doenças.
- Microrganismos fitopatogênicos – incluindo os de importância quarentenária e os fitopatógenos de culturas de importância econômica, como arroz, feijão, milho, sorgo, hortaliças e outras plantas.
- Microrganismos de interesse para a agroindústria e a produção animal – microrganismos relacionados ao agronegócio do leite, da agroindústria, de caprinos e ovinos, da suinocultura, da avicultura, da agroenergia e da indústria de alimentos.
- Microrganismos de interesse agroindustrial – é uma coleção institucional composta de leveduras e fungos filamentosos patogênicos relacionados, especialmente, com vinho e videira, respectivamente.

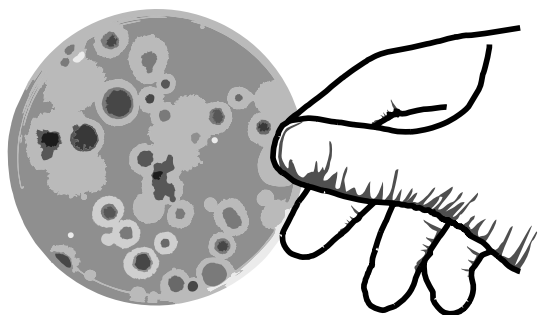
Essas coleções seguem padrões e protocolos internacionais estabelecidos de biossegurança, bioproteção, qualidade, intercâmbio e registro. Mais informações acerca do acervo, de gerenciamento e de técnicas empregadas nas coleções são disponibilizadas na *homepage* da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

405 Por que essas coleções de microrganismos são importantes para o agronegócio brasileiro?

Diversos microrganismos causam forte impacto no agronegócio brasileiro. Por esse motivo, os recursos genéticos microbianos precisam ser preservados adequadamente, a fim de garantir o fornecimento de agentes microbianos de qualidade para a pesquisa, a indústria, o registro de patentes, entre outros. Como exemplo, têm-se as bactérias fixadoras de nitrogênio que podem substituir o uso de fertilizantes nitrogenados; linhagens de leveduras, como de *Saccharomyces cerevisiae*, de relevância para o mercado de vinhos e espumantes; bactérias ácido-láticas, como os *Lactobacillus* benéficos e certos patógenos, como *Streptococcus*, causando impacto no setor de laticínios; fungos comestíveis e medicinais, de um lado, e patógenos de alimentos, como *Salmonella* spp., de outro lado, ambos impactando a agroindústria e a saúde humana; bactérias de invertebrados, como as do gênero *Bacillus*, bem como fungos e vírus de invertebrados com grande aplicação, como inseticidas biológicos. Há também coleções de patógenos com o fim de desenvolvimento de vacinas humanas e animais, responsáveis pela guarda de cepas idênticas às que circulam nas respectivas populações brasileiras, garantindo melhor eficácia no controle de surtos de doenças de importância econômica na agropecuária e para a saúde da população humana.

406 Como se dá a coleta e o isolamento dos microrganismos?

As atividades de coleta e isolamento são específicas para cada grupo de microrganismo. A coleta dos microrganismos sempre deve obedecer à legislação vigente e, no caso de obtenção a partir de tecido animal, seguir também os procedimentos de bioética. Nos exemplares



de *Manual de curadores de germoplasma – microrganismos* (Castro et al., 2011), já citados, estão detalhados procedimentos para coleta e avaliação dos principais grupos de microrganismos de importância para o agronegócio.

Bactérias fixadoras de nitrogênio podem ser isoladas a partir de nódulos de leguminosas hospedeiras e fungos micorrízicos, a partir de plantas com boa nutrição de fósforo. Microrganismos patogênicos, em geral, são isolados de animais com sintomas clínicos de doenças, de plantas exibindo sintomas, de solos infestados e de sementes infestadas e/ou infectadas. Os agentes de biocontrole de doenças de plantas são comumente encontrados em amostras de tecidos vegetais, colonizando-os externa ou internamente (endofíticos), sem causar qualquer sintoma. Também podem ser obtidos de amostras de solo, principalmente da rizosfera, de partes vegetais em decomposição ou, ainda, de sementes. Vírus de invertebrados são coletados de insetos mortos ou vivos com sinais de infecção, enquanto os patógenos de vertebrados são obtidos por necrópsia ou *swab* de animais infectados. Muitos microrganismos são isolados sob as mais diversas condições edafoclimáticas, como a Antártida, a Caatinga, a Amazônia, o Cerrado, a Mata Atlântica, entre outros.

407 Em que consiste o enriquecimento de coleções microbianas?

O enriquecimento é um conjunto de atividades destinadas à ampliação do acervo da coleção e pode ocorrer de duas formas: mediante coleta e mediante intercâmbio. A coleta consiste na busca a campo dos microrganismos de interesse para serem preservados em coleção. O intercâmbio ocorre quando há introdução, na coleção, de materiais recebidos de outras coleções ou de pesquisadores e instituições com interesse no uso de microrganismos para pesquisa científica. Por ambos os procedimentos se consegue

ampliar a base genética da coleção, introduzindo-se amostras provenientes de diferentes habitats, considerando-se que a especificidade de um organismo pode exigir a vigência de condições especiais de ambiente que estão restritas a uma porção de um habitat.

408

Como os microrganismos são avaliados quanto ao potencial de uso?

Os microrganismos obtidos de coletas, e/ou introduzidos nas coleções por meio de intercâmbio, podem ser testados quanto a propriedades importantes, como a produção de diversas enzimas com aplicação biotecnológica, a capacidade de solubilizar fosfatos, a produção de fitormônios, a capacidade de degradação de poluentes e agrotóxicos, como biocidas, entre outras propriedades de interesse. Tais testes partem do estudo das características culturais, dos ensaios moleculares e de produção enzimática, para determinação da identidade taxonômica e das propriedades características de cada organismo. Agentes de controle biológico e patogênicos são avaliados em testes de infecção *in vitro* e *in vivo*. Bactérias fixadoras de nitrogênio e fungos micorrízicos são avaliados quanto à eficiência na nutrição das plantas (fornecimento de nitrogênio e fósforo, respectivamente), inicialmente, em condições controladas, utilizando substrato estéril e na ausência parcial ou total desses nutrientes. Outros fungos e bactérias potenciais promotores do crescimento de plantas são submetidos a estudos *in vitro* quanto à capacidade de produção de fitormônios, solubilização de nutrientes e produção de sideróforos. Esses estudos devem ser seguidos por testes *in vivo* para confirmação desse potencial.

409

Por que se buscam microrganismos em ambientes extremos, e qual pode ser sua aplicação biotecnológica?

Ambientes extremos, por definição, compreendem aqueles cujas condições físicas e químicas impedem o desenvolvimento de organismos que possuem rotas bioquímicas bem conhecidas. Assim, ambientes com alto nível de salinidade, extremos de temperatura (altas ou baixas), ambientes subterrâneos (gelo ou rochas) e fissuras

subterrâneas com atividade hidrotérmica (temperatura e pressão muito elevadas) atraem a curiosidade científica sobre as estratégias físicas, bioquímicas e moleculares que permitem a existência e sobrevivência de organismos denominados extremófilos, pelas suas condições desfavoráveis às formas de vida mais abundantes. Por serem as formas mais antigas de vida no planeta, parece óbvio, do ponto de vista evolutivo, que esses extremófilos são capazes de indicar como a vida se originou e se adaptou às mais diversas condições ambientais. Além disso, os trabalhos científicos têm indicado que algumas estratégias de sobrevivência particulares dos extremófilos, principalmente a versatilidade metabólica na produção de moléculas adaptadas e a robustez de seus biocatalisadores, podem se tornar uma grande fonte de novas aplicações biotecnológicas, principalmente em processos industriais em que essas condições mais extremas são importantes para acelerar determinados bioprocessos.

410

Como se procede a identificação dos microrganismos em uma coleção de culturas?

Em geral, a identificação de cada grupo de microrganismos requer uma série de análises específicas. Atualmente, a identificação dos microrganismos é feita pela análise dos genes mais conservados, os ribossomais, como o 16S RNAr para procariotos e o 18S RNAr e a região intergênica entre o 5S RNAr e o 18S RNAr, em eucariotos. Outros genes conservados, que codificam proteínas essenciais para os microrganismos, são usados de modo complementar, e, com o avanço nos equipamentos de sequenciamento, genomas inteiros podem ser obtidos com maior facilidade, permitindo a identificação precisa de um número crescente de microrganismos. Outras técnicas baseadas em cromatografia e espectrometria também podem ser usadas para tipificação de microrganismos com base na composição de ácidos graxos e proteínas celulares. Alguns vírus são identificados com base em estruturas típicas observadas por microscopia ótica, como os corpos de oclusão de forma poliédrica (altamente refráteis), porém a maioria requer análises por microscopia eletrônica de estruturas específicas em partículas purificadas de vírus. Para uma melhor identificação desses agentes infecciosos,

frequentemente têm sido utilizadas análises moleculares a partir de DNA das partículas virais. Vale lembrar que cada grupo microbiano tem suas peculiaridades, e especialistas internacionais que atuam com cada grupo estabelecem os critérios mínimos para a taxonomia e sistemática. A partir da década de 1980, a taxonomia polifásica, que engloba desde dados fenotípicos até os baseados no DNA, passou a ser utilizada para a definição de espécies microbianas, e, mais recentemente, observa-se uma prevalência da chamada taxonomia molecular ou taxonomia genômica, que se baseia em informações dos genomas dos microrganismos (Lajudie et al., 2019).

411

Então a maior parte dos microrganismos já foi isolada e se encontra depositada em coleções de culturas?

Absolutamente não. A possibilidade de se extrair DNA total de amostras ambientais, incluindo solos, águas e oceanos, e o grande avanço nas metodologias de sequenciamento de DNA e a comparação das sequências por bioinformática têm mostrado que, em todos esses anos de estudo, desde a descoberta do microscópio (por Antonie van Leeuwenhoek, 1632–1723), apenas conseguimos identificar e definir meios de crescimento para menos de 1% dos microrganismos do planeta. Os demais 99%, ou são microrganismos denominados não cultiváveis, ou ainda não sabemos como cultivá-los, porém, devem representar uma fonte riquíssima de recursos biológicos que poderão ser desvendados nas próximas décadas. À medida que as metodologias de pesquisa avançam, mais e mais microrganismos têm sido descobertos, e assim será daqui em diante.

412

Visto que a grande maioria dos microrganismos do ambiente ainda não pode ser cultivada em laboratório, como a diversidade de recursos genéticos pode ser estudada e preservada?

Os microrganismos respondem pela maior parte da diversidade biológica do nosso planeta. Quanto maior for a biodiversidade

preservada, maior a probabilidade de se encontrar, por meio da bioprospecção de caracteres, algum componente microbiano de interesse para a sociedade, que possa ser produzido em larga escala. Diversos compostos e enzimas de origem microbiana com inúmeras aplicações biotecnológicas são conhecidos, por isso é de se esperar que a diversidade entre os organismos não cultiváveis represente uma fonte enorme de novos produtos metabólicos. Essa diversidade microbiana não cultivável pode ser estudada com o uso das técnicas ômicas, e que incluem a metagenômica (estudo dos genes do meio ambiente), transcriptômica (estudo dos genes expressos), proteômica (estudo das proteínas), metabolômica (estudo dos produtos do metabolismo). Com essas técnicas, além de recuperar e analisar a diversidade biológica, metabólica e funcional desses microrganismos presentes em determinado momento no material estipulado, podem-se analisar funcionalmente os fragmentos, genes e metabólitos produzidos. Essa segunda análise possibilita a descoberta de novas funções bioquímicas associadas a um determinado ambiente, sem a necessidade de se identificar um microrganismo que a produza.

413 Que são os microrganismos promotores de crescimento de plantas (MPCPs) e como agem para promover o crescimento vegetal?

O grupo dos MPCPs inclui tanto microrganismos procarióticos quanto eucarióticos que desempenham funções que estimulam o crescimento das raízes e da parte aérea, o aumento da disponibilidade de nutrientes, o controle de estresse abiótico e de doenças. Tais funções são largamente descritas tanto para bactérias, com destaque para os filos Proteobacteria e Firmicutes, e os gêneros *Pseudomonas* e *Bacillus*, como para fungos, com destaque para os gêneros *Trichoderma*, *Gliocladium* e *Piriformospora*. Os MPCPs apresentam vários mecanismos que resultam na promoção do crescimento de plantas, entre eles: a solubilização de fosfato, a fixação de nitrogênio, a aquisição de ferro, a produção de fitormônios e

a atividade de 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) desaminase. Os MPCPs podem também exercer efeitos indiretos na promoção do crescimento de plantas pelo controle de fitopatógenos, mencionado anteriormente, na maior tolerância a estresses ambientais, como seca e altas temperaturas, na remoção de substâncias tóxicas do solo, como metais, compostos aromáticos, herbicidas, pesticidas e outros xenobióticos.

414

Quais são os principais fitormônios (reguladores de crescimento) liberados pelos microrganismos?

Inúmeras substâncias com ação estimuladora sobre as plantas são produzidas por microrganismos e podem promover o aumento do comprimento e área de superfície das raízes. O ácido-indolacético (AIA) é o mais abundante na família das auxinas, e cerca de 80% das bactérias rizosféricas podem sintetizá-lo. Além da auxina, muitos microrganismos podem produzir formas de citocinina que estão envolvidas na germinação de sementes e formação inicial dos ramos, bem como na formação de nódulos durante a fixação de nitrogênio. Outro regulador de crescimento é a giberelina que pertence a um grupo composto por mais de 130 moléculas envolvidas na divisão e alongação celular dentro do meristema apical. O ácido abscísico, por sua vez, está envolvido nas respostas das plantas aos estresses bióticos e abióticos, juntamente, com o etileno. O ácido abscísico é responsável pela inibição da germinação das sementes e florescimento, proteção contra seca, estresse salino e de metais tóxicos. Já o etileno é um hormônio gasoso que também atua em condições de estresses abióticos e estresse por ataque de patógenos; sendo produzido a partir da conversão do S-adenosilmetionina a 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC) pela atuação da enzima ACC sintase. Alguns microrganismos da rizosfera são capazes de degradar o ACC secretado pelas raízes das plantas, o que diminui o nível de ACC e de etileno na planta e, conseqüentemente, seu estresse.

415

Quais são os MPCPs e como eles realizam a ciclagem de fósforo do solo e de resíduos vegetais, liberando-o para as plantas?

Entre as bactérias que possuem habilidade de solubilizar fósforo no solo destacam-se os gêneros *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Erwinia*, *Gluconacetobacter*, *Serratia*, *Bradyrhizobium*, *Salmonella*, *Sinomonas*, *Thiobacillus* e *Flavobacterium*. No grupo dos fungos, os gêneros *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mortierella*, *Rhizopus*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Sclerotium*, *Torula*, *Trichoderma* e *Fusarium* compreendem aqueles comumente com maior potencial na solubilização de fosfato. Ao que se conhece, os mecanismos responsáveis pela disponibilização de fósforo inorgânico (Pi) estão ligados à liberação de ácidos orgânicos pelos microrganismos, e os mais citados são os ácidos cítrico, oxálico e glucônico, com conseqüente redução de pH do solo e produção de exopolissacarídeos. Além da solubilização do P inorgânico, os microrganismos podem mineralizar o fosfato orgânico do solo denominado fosfato inositol (fitato; mioinositol hexafosfato), que é a forma predominante de P orgânico em muitos solos. A mineralização do P retido na molécula orgânica do ácido fítico ($C_6H_{18}O_{24}P_6$) ocorre mediante a liberação de enzimas fosfatases e fitases.

416

Existem produtos comerciais desenvolvidos a partir dos recursos genéticos microbianos das coleções da Embrapa?

Sim. Há inoculantes com bactérias fixadoras de nitrogênio para a soja, o feijoeiro, o feijão-caupi e mais uma centena de outras leguminosas de grãos, forrageiras tropicais e temperadas, arbóreas e adubos verdes, todas (hoje são cerca de 700 produtos) autorizadas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Mapa) e estão depositadas em coleções da Embrapa. A seleção e preservação de linhagens de leveduras de vinícolas importantes da Serra Gaúcha

são outro exemplo. Para cada indicação geográfica (IG) relacionada ao setor vitivinícola, existe um perfil de leveduras autóctones sendo mantidas na coleção e linhagens específicas de *Saccharomyces cerevisiae* disponíveis para uso na elaboração de vinhos. Outro exemplo são as bactérias do gênero *Bacillus*. A Embrapa já desenvolveu cinco bioinseticidas biológicos à base dessa bactéria: o Bt-horus, para o mosquito da dengue, *Aedes aegypti* (2005); o Ponto Final, para as lagartas que atacam culturas agrícolas (2009); o Fim da Picada, para borrachudos (2010); o Nova Bti (2016) e o Strike Bio-Bti (2017), ambos também para controle dos mosquitos *A. aegypti*. Inseticidas biológicos estão sendo fabricados também a partir de baculovírus selecionados e depositados em coleções. Kits de diagnósticos de doenças foram desenvolvidos a partir do isolamento de microrganismos presentes em vertebrados infectados. As coleções também são referência em suas especialidades no diagnóstico de importantes agentes de doenças de plantas, animais e contaminantes de alimentos. Ainda, tais coleções são importantes no desenvolvimento de produtos alimentícios com impacto na agricultura familiar, como caracterização e produção de queijos artesanais, entre outras aplicações, produtos e análises, com grande impacto no agronegócio brasileiro.

417

O que devo saber para desenvolver e registrar produtos contendo microrganismos ativos para uso nas lavouras?

O desenvolvimento de produtos contendo microrganismos ativos, no Brasil, é amparado, de forma geral, por dois arcabouços legais: para o desenvolvimento de produtos contendo microrganismos para biocontrole de pragas e doenças, deve ser seguida a chamada Lei dos Agrotóxicos, Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989 (Brasil, 1989), subsequentes leis complementares, seus decretos regulamentadores ou de alterações, bem como demais regras oficiais e infralegais que esclarecem como deve ser o desenvolvimento de um novo produto. Para o registro de produtos contendo bactérias promotoras de crescimento de plantas, deve ser seguida

a chamada Lei dos Fertilizantes, Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980 (Brasil, 1980), subsequentes leis complementares, seus decretos regulamentadores e demais regras e protocolos oficiais. O Mapa mantém a atualização dessas legislações em seu site.

418 O que se entende por biofertilizante microbiano?

De forma geral, o termo biofertilizante pode ser entendido como um produto orgânico com finalidade nutritiva para plantas, obtido a partir de resíduos e subprodutos agropecuários, mas também urbanos, produzidos mediante atuação biológica de diversos microrganismos em processos, principalmente anaeróbicos (na ausência de ar). Em alguns casos, os biofertilizantes contêm microrganismos específicos com comprovado potencial de promoção de crescimento vegetal quando disponibilizados às plantas. No Brasil, também podem ser considerados biofertilizantes os produtos formulados que utilizam microrganismos reconhecidamente benéficos para o crescimento das plantas, como os inoculantes, e são desenvolvidos de acordo com protocolos amplamente debatidos nas reuniões da Rede de Laboratórios para a Recomendação, Padronização e Difusão de Tecnologia de Inoculantes Microbianos de Interesse Agrícola (Relare), sendo responsabilidade do Mapa a elaboração de instruções normativas contendo os protocolos oficiais, bem como a fiscalização do cumprimento das regras estabelecidas.

419 Quais são as diferenças básicas entre a fermentação e a respiração celular?

A fermentação é uma série de processos bioquímicos celulares que se dá em condições de ausência ou baixa disponibilidade de oxigênio, e na qual o receptor final de elétrons é um composto orgânico. O NAD^+ é um cofator orgânico essencial para geração de energia celular a partir de carboidratos. Nesse processo, ele é reduzido a NADH^+ , que possui alto potencial redox para mover a

síntese de energia, na forma de ATP. Assim, a regeneração do NAD⁺ ocorre facilmente na presença de oxigênio, mas sem oxigênio o ciclo de Krebs não funciona, acumula-se piruvato, e as células dependem exclusivamente da glicólise para gerar energia. Desse modo, a conversão dos açúcares simples é dificultada. Na fermentação alcoólica realizada pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*, por exemplo, o piruvato é transformado em etanol pela ação de duas enzimas, tendo o acetaldeído como intermediário na oxidação do NADH⁺. Na fermentação láctica que ocorre no processo de silagem, por exemplo, uma enzima usa o NADH⁺ para reduzir o piruvato a lactato. A respiração se caracteriza por ter um composto inorgânico como o receptor final de elétrons. Se esse composto inorgânico for o O₂, a respiração é aeróbica. Se o composto inorgânico for um elemento diferente do oxigênio, como o ferro ou o enxofre, por exemplo, a respiração é anaeróbica, a qual pode ser realizada por diversos microrganismos.

420

Existem diferentes formas de crescimento microbiano em meio líquido?

Há três sistemas básicos para a condução dos processos de crescimento microbiano, também chamados de bioprocessos, em meio líquido:

- No processo chamado de batelada (cultivo descontínuo ou fechado), os substratos que compõem o meio de cultura são adicionados no início do processo e são imediatamente esterilizados por calor úmido, dentro do próprio recipiente de cultivo, o biorreator. Após esfriar, e atingir a temperatura de operação, adiciona-se o inóculo microbiano, resultante de um cultivo de menor volume, e o processo de multiplicação e conversão se inicia. O volume do meio permanece constante, e o produto final é removido após o término do processo, quando os substratos foram consumidos. De fato, apenas ar comprimido estéril é fornecido continuamente, caso o microrganismo possua metabolismo aeróbico, e

o gás carbônico produzido metabolicamente com outros gases é removido.

- O processo chamado de batelada alimentada caracteriza-se por possuir uma etapa de fornecimento intermitente ou mesmo contínuo de nutrientes após o período inicial de crescimento e multiplicação celular, este realizado na forma de uma batelada. Em geral, os nutrientes estão mais diluídos no meio inicial de cultivo, evitando a multiplicação muito acelerada de certos microrganismos. Com frequência, esse processo é bastante utilizado quando alta concentração inicial de algum nutriente essencial pode ser inibitória para o crescimento, ou levar à produção de metabólitos indesejáveis. A etapa inicial de batelada se começa com um carregamento parcial do biorreator, sendo necessário deixar certo espaço para receber a alimentação posterior. A fase de alimentação pode durar até que o biorreator atinja seu volume útil máximo de operação, quando, então, o processo é finalizado e os produtos são recolhidos. Assim como na batelada tradicional, o fornecimento de oxigênio se dá em função da demanda metabólica do microrganismo em cultivo.
- O processo contínuo (cultivo aberto) é um cultivo equilibrado, com volume constante, que pode ser mantido indefinidamente por meio do fornecimento de nutrientes novos e retirada de produtos na mesma taxa estabelecida. O estado estacionário é estabelecido quando as células estão crescendo exponencialmente e a sua concentração, bem como a dos nutrientes, permanece constante dentro do biorreator. Há formas diferentes de manter essa estabilidade, sempre relacionadas com a taxa de diluição necessária, o fluxo de nutrientes e a velocidade específica de crescimento, típica para cada microrganismo.

Quando o produto final são as próprias células dos microrganismos que estão sendo cultivados, visando, por exemplo, à produção de inoculantes, de proteína unicelular ou de outros

bioinsumos em que há necessidade de se ter os microrganismos presentes e viáveis, o próprio caldo de cultivo integral é formulado e envasado adequadamente. Para o caso em que o produto de interesse é um metabólito produzido ao longo do processo, sendo esse acumulado no meio de cultivo, é possível recuperar as células por centrifugação ou sedimentação dentro do próprio tanque, utilizando o caldo da cultura para a finalidade desejada. Essas células recirculadas podem ser usadas como um novo inóculo (pé-de-cuba), reduzindo o tempo e os custos de produção. O processo descontínuo com recirculação de células também é conhecido por batelada repetida.

421

Quais são as principais formas de multiplicação de bactérias visando à produção de inoculantes?

A maioria das bactérias utilizada em inoculantes cresce adequadamente em meios de cultura líquidos, com controle de temperatura e uma agitação orbital simples. Esse sistema se aplica para pequenas escalas, podendo ser utilizados frascos Erlenmeyer ou vasos de vidro com capacidade para aproximadamente 10 L para o cultivo celular. A multiplicação dos microrganismos em maior escala é feita também de forma submersa, em grandes tanques chamados fermentadores ou biorreatores. Esses são recipientes hermeticamente fechados, que recebem o meio de cultivo adequado para cada microrganismo e passam por uma etapa de esterilização. Os biorreatores frequentemente possuem um sistema de agitação através de um eixo central vertical motorizado, contendo algum tipo de hélice ou turbina agitadora interna, para promover a homogeneização. Geralmente, utiliza-se o processo de cultivo em batelada (fermentação fechada ou descontínua) que se inicia com a introdução asséptica do inóculo, que são as células do microrganismo que vão se multiplicar. Apenas o ar previamente esterilizado é injetado no sistema ao longo do cultivo, buscando sua dissolução no meio líquido. Essa aeração proporciona uma condição aeróbica apropriada para a produção em larga escala de *Bradyrhizobium*

spp., por exemplo. Nos cultivos submersos, é possível variar alguns parâmetros essenciais dos bioprocessos relacionados ao crescimento dos microrganismos, tais como as taxas de fornecimento de oxigênio e nutrientes, a temperatura de crescimento e a remoção do calor metabólico, dependendo da demanda particular de cada estirpe. Quando os microrganismos atingem uma concentração celular adequada, convertendo a maior parte dos nutrientes presentes no meio de cultivo em biomassa celular, o bioprocessamento é finalizado, e o caldo celular deve ser imediatamente formulado e envasado.

422

Quais são as principais formas de multiplicação de fungos filamentosos e de leveduras?

Fungos leveduriformes são multiplicados em fermentadores (biorreatores), especialmente quando o objetivo é a obtenção de células vegetativas, em processo chamado de cultivo submerso. Vale destacar, entretanto, que apesar de ser utilizado um biorreator, as condições de crescimento são comumente aeróbicas, que favorecem a respiração celular, e não o processo fermentativo propriamente dito. Para fungos filamentosos, os cultivos submersos podem apresentar algumas restrições em virtude da necessidade de agitação constante que eleva a tensão de cisalhamento e conseqüente rompimento do micélio, elevando o gasto metabólico para reposição celular, além das questões reológicas envolvidas. Assim, os cultivos em fase sólida, utilizando substratos sólidos como arroz cozido e outros subprodutos da agroindústria como suporte insolúvel, e na ausência de água livre, são uma forma importante de multiplicação de fungos, principalmente porque a pouca água disponível pode induzir a formação de estruturas de resistência em certos fungos. Os propágulos são coletados e processados para a formulação, como ocorre para os fungos do gênero *Beauveria* e *Metarhizium*. Esse último método de cultivo de fungos para produção de compostos biotecnologicamente úteis possui vantagens, pois requer menos espaço comparado com o rendimento em produto; as etapas de extração, concentração e purificação são

frequentemente mais simples; o investimento pode ser reduzido; e a tecnologia não é muito sofisticada. Em contrapartida, o controle dos parâmetros do processo é mais difícil de realizar, principalmente a transferência de massa e homogeneização do substrato.

423 Como os vírus são cultivados em laboratório?

Os vírus precisam infectar uma célula para utilizar a sua maquinaria celular e fazer a replicação viral a fim de se manterem vivos; eles sobrevivem somente dessa maneira por não possuírem estrutura celular. Nos laboratórios, os vírus são cultivados em garrafas especiais para essa finalidade, contendo determinadas linhagens de células, especialmente mantidas para o cultivo de tais vírus. Cada espécie viral se mantém melhor em uma linhagem celular do que em outra. Para que as células se mantenham vivas, elas necessitam de meio de cultura com nutrientes específicos para elas, e, antes de esgotar esses nutrientes, o meio de cultura precisa ser trocado para a correta manutenção das células e, conseqüentemente, dos vírus. Os vírus também podem ser cultivados em ovos de galinha livre de outros patógenos, especialmente na produção.

424 Quais são as principais formas de multiplicação de vírus visando à produção de bioinseticidas?

Os vírus requerem hospedeiros suscetíveis e produtivos para se multiplicarem e, ao final da infecção, produzirem suas partículas virais. Duas formas de multiplicação viral podem ser usadas para produção de bioinseticidas: os sistemas de infecção in vivo (insetos criados em dieta artificial ou natural), e os sistemas de infecção in vitro (linhagens de células de insetos mantidas em meio de cultura). Uma grande dificuldade para multiplicação de vírus é a sua produção em larga escala que envolve a utilização de biofábricas e/ou biorreatores de grande porte. No caso de biofábricas, forma mais utilizada, basicamente requer criação massal do inseto hospedeiro sadio, seguida de infecção com o isolado viral selecionado

pelo seu alto grau de patogenicidade, aliados ao processamento de produção e formulação do produto.

425 Como são feitas as vacinas para animais e humanos?

Inicialmente, as vacinas têm a função de imitar uma infecção no organismo, sendo ele animal ou humano. Dessa forma, induzem o organismo a produzir as defesas (os anticorpos) específicas contra o patógeno causador de determinada doença. Na maioria das vezes, as vacinas são elaboradas com o microrganismo inteiro (vírus e bactérias), mas podem ser elaboradas com porções de proteínas específicas que, da mesma maneira, vão estimular as defesas do organismo, prevenindo a infecção. Por exemplo, a vacina para a gripe é feita com vírus da gripe, vacina da febre amarela é feita com vírus da febre amarela, e assim com os demais microrganismos. O processo de fabricação das vacinas é muito parecido, mas é específico para cada patógeno (microrganismo causador de doença). Ainda, as vacinas mais modernas também podem ser elaboradas com uso da biotecnologia, de forma a garantir a eficácia igual ou superior ao modo tradicional. Uma vacina para um protozoário pode ser produzida por uma porção de genes específicos do protozoário, mas inserido numa bactéria ou fungo, e, assim, esse microrganismo produzirá a proteína que, depois de purificada, será formulada em uma vacina contra o protozoário.

426 Em que extensão os microrganismos podem ser usados em controle de pragas agrícolas?

Já existe número relativamente grande de formulações biopesticidas no mercado, em nível mundial, para aplicação diretamente no solo, em sulcos de plantio ou diretamente nas plantas, ou contra os mais distintos alvos. Entre os gêneros de fungos utilizados no controle de insetos destacam-se *Metarhizium*, *Beauveria*, *Lecanicillium*, *Isaria*, *Hirsutella*, *Entomophthora* e *Aschersonia*. Entretanto, bactérias do gênero *Bacillus* merecem especial destaque

entre os biocontroladores de insetos, especialmente *B. thuringiensis* e *B. sphaericus*. Produtos à base de *B. thuringiensis* são comercializados há mais de 50 anos. Existem hoje, no mercado, produtos para controle de lagartas, mosquitos e borrachudos. No controle biológico de doenças de plantas, grande parte dos agentes bacterianos estudados são *Pseudomonas* e *Bacillus*. Dentre as demais, incluem-se *Agrobacterium radiobacter*, *Burkholderia cepacia* e actinomicetos. Já entre os fungos, podem ser destacadas diversas espécies dos gêneros *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Penicillium*, *Lecanicillium*, *Conyothirium*, *Chaetomium* e espécies de *Pythium* não fitopatogênicas. Algumas bactérias, como *Pasteuria penetrans*, e alguns actinomicetos têm demonstrado marcada ação contra nematoides, embora os microrganismos mais promissores para controle desses fitopatógenos sejam fungos, pela facilidade com que são isolados do solo e cultivados em meios artificiais para incorporação ao substrato em que as plantas são cultivadas. O controle biológico de plantas daninhas, por sua vez, vem sendo pesquisado há vários anos, e existem mais de 110 patógenos de planta com potencial para uso em espécies daninhas específicas.

427

Que aplicações biotecnológicas podem ser atribuídas ao gênero *Bacillus*?

O gênero *Bacillus*, de ampla distribuição nos mais diferentes ambientes, é reconhecido como grande produtor de substâncias que, embora não são essenciais para seu metabolismo, facilitam sua sobrevivência, adaptação e dispersão. Diferentes espécies de *Bacillus* podem produzir uma grande variedade de bacteriocinas, compostos que inibem o desenvolvimento de outras bactérias e que possuem aplicação em alimentos. Uma diversidade de enzimas também é produzida por *Bacillus* e possui ampla aplicação industrial no processamento de alimentos e compostos poliméricos, bem como na indústria química. Alguns lipopeptídeos possuem atividade antiviral e anti-inflamatória, além de serem importantes agentes espumantes, surfactantes e emulsificantes. De forma geral,

bactérias desse gênero são resistentes e estáveis geneticamente, o que amplia sua potencialidade biotecnológica. São, inclusive, fonte de genes para a transformação genética de plantas, como é o caso das plantas Bt. Além disso, são geralmente fáceis de serem cultivadas em grande escala e se prestam às mais variadas formas de cultivo, aceitando uma grande variedade de compostos químicos como elementos nutritivos, componentes dos meios de cultivo.

428

Qual é a importância das bactérias do gênero *Bacillus* no controle biológico de insetos?

Há mais de 40 anos se conhece a eficiência de bactérias do gênero *Bacillus* no controle de insetos, em culturas como milho e algodão. Atualmente, são conhecidas pelo menos 30 subespécies de *B. thuringiensis* (Bt) capazes de produzir toxinas, que são proteínas com ação inseticida. Quando o inseto ingere os esporos contendo os cristais proteicos, ainda durante a fase larval, seu trato digestivo é paralisado pela ação tóxica, e o indivíduo morre em alguns dias não completando seu ciclo de vida. Durante muito tempo, esporos contendo toxinas foram aplicados em ambientes infestados para controle de mosquitos urbanos (subespécie *israelensis*) com pouco ou nenhum impacto sobre espécies não alvo. Outras subespécies de Bt têm sido intensamente utilizadas na agricultura, em programas de manejo integrado de pragas de diversas culturas.



429

Como os microrganismos atuam controlando doenças de plantas?

Os principais mecanismos envolvidos na supressão de fitopatógenos incluem a produção de compostos antimicrobianos,

competição por substrato e indução da resistência sistêmica da planta, entre outros. Na forma ativa, a inibição pode ocorrer de três maneiras:

- O antagonista produz substâncias tóxicas e libera para o meio, como antibióticos e enzimas extracelulares, que impedem o crescimento do fitopatógeno. Por exemplo, a produção de cianeto de hidrogênio (HCN) e/ou enzimas de degradação de parede celular, quitinase e β -1,3-glucanase.
- O patógeno entra em contato com o microrganismo antagonico e sofre plasmólise.
- Por meio do parasitismo, quando um microrganismo ataca o outro e obtém nutrientes das células vivas. Na forma passiva, a inibição ocorre pela competição entre os dois microrganismos por espaço e nutrientes essenciais a ambos, por exemplo, a produção de sideróforos.

430

Quais abordagens e estratégias podem ser utilizadas no emprego de microrganismos como agentes de controle biológico de doenças de plantas?

Embora os primeiros relatos da supressão de fitopatógenos por agentes microbianos tenham sido verificados há cerca de 100 anos, na prática o controle biológico de doenças de plantas é mais recente, tendo sido proposto na década de 1960. Na ocasião, duas estratégias de controle foram sugeridas: aumento das populações de inimigos naturais ou antagonistas e introdução de linhagens selecionadas de agentes de controle biológico. Desde então, a maioria das pesquisas foram dirigidas à segunda estratégia, consistindo basicamente na seleção de antagonistas eficazes e desenvolvimento de bioprodutos baseados em linhagens únicas, consideradas efetivas em condições experimentais. Atualmente, três diferentes abordagens de controle biológico são consideradas as principais:

- Redução da população do patógeno, utilizando-se antagonistas que destroem e/ou reduzem o vigor e a agressividade do patógeno.

- Proteção da superfície da planta com microrganismos estabelecidos em fermentos, em folhas ou na rizosfera, em que eles funcionam como barreiras aos patógenos, por meio de ação competitiva, antibiótica ou parasítica.
- Estímulo a resistência sistêmica da planta pelo estabelecimento de agentes não patogênicos dentro da planta ou em áreas infectadas.

431 O que são microrganismos antagonistas?

Os antagonistas são microrganismos que possuem potencial para interferir no crescimento ou na sobrevivência dos patógenos diretamente, contribuindo, desse modo, para o controle biológico. Podem ser: residentes, ou habitantes naturais do solo, superfície e/ou interior dos vegetais, ou em qualquer sítio que possa ser ocupado pelo patógeno. Podem ser multiplicados em laboratório e, então, reintroduzidos no ambiente, para potencializar sua ação; não residentes, ou microrganismos exóticos, ou isolados de outros ambientes ecológicos e que podem ser cultivados e aplicados aos sítios onde são necessários (no solo, nas sementes, atomizados sobre as folhas e outros órgãos das plantas, ou misturados aos substratos). Certos antagonistas apresentam ação de supressão de patógenos que atacam os frutos em pós-colheitas, sendo aplicados diretamente na superfície de frutos, raízes e tubérculos colhidos.

432 Como alguns microrganismos podem induzir nas plantas respostas de resistência a doenças?

No contexto da resistência sistêmica, fitormônios produzidos por certos microrganismos podem atuar como estimulantes do sistema imune das plantas, interferindo no funcionamento dos principais sistemas de defesa vegetal. Dentre esses, destacam-se a resistência sistêmica adquirida (SAR) e a resistência sistêmica induzida (ISR).

SAR é uma via de largo espectro, que depende do ácido salicílico e não apresenta especificidade à infecção inicial, tendo efeito,

principalmente, contra patógenos biotróficos. Geralmente, a capacidade de defesa da planta é adquirida após a primeira infecção por um microrganismo não patogênico que leva a uma morte celular programada por meio do acúmulo de ácido salicílico e secreção sistêmica de proteínas antimicrobianas PR (relacionadas à patogênese) que protegem a planta contra infecções secundárias por um período de semanas a meses. Essas protegem a planta contra infecções secundárias por um período de semanas a meses.

Enquanto a SAR é dependente do ácido salicílico, a ISR é dependente do ácido jasmônico e da sinergia com o etileno. Essa via reforça o sistema de defesa de toda a planta e sofre regulação durante a colonização das raízes por microrganismos mutualistas. A razão entre ácido jasmônico e etileno induz a expressão das enzimas quitinases e β -1,3-glucanases que degradam as paredes celulares, principalmente de fungos fitopatógenos que aumentam a expressão da enzima fenilalanina amônia-liase que promove o acúmulo de lignina nos tecidos próximos ao local da infecção, além de peroxidases que produzem espécies reativas de oxigênio com ação antimicrobiana. Além disso, a resistência induzida pelo ácido jasmônico pode ser desencadeada nas partes distais ao dano na planta, levando à produção de substâncias repelentes, antinutritivas, compostos tóxicos que ajudarão a planta a se proteger aos ataques futuros. Os microrganismos indutores da via ISR são geralmente rizobactérias promotores de crescimento de plantas, destacando-se *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia* e *Azospirillum*. Alguns microrganismos podem exercer a indução da resistência em diferentes espécies de plantas, enquanto outros apresentam especificidade para uma determinada planta hospedeira, o que sugere a necessidade de reconhecimento do microrganismo por parte da planta.

433 O que são sideróforos?

Os sideróforos são compostos orgânicos quelantes de íons férricos, que são excretados nas proximidades dos microrganismos que os produzem. O ferro é um microelemento de importância vital

para todos os seres vivos. A maior parte do ferro presente na rizosfera se encontra na forma férrica (Fe^{3+}), como hidróxidos insolúveis. Tais compostos, de baixo peso molecular, formam ligações estáveis com o ferro presente na rizosfera, solubilizando-o. Dessa forma, além de torná-lo disponível para as plantas, ao absorvê-lo esses microrganismos o tornam indisponível para os fitopatógenos, com os quais competem por esse micronutriente. Em outras palavras, o termo sideróforo é usado para designar compostos que sequestram o ferro no ambiente do solo.

434

Os fungos podem sobreviver em condições desfavoráveis ao seu desenvolvimento?

Sim, certos fungos possuem a capacidade de formar estruturas de resistência a partir de células somáticas, tais como rizomorfas, que são estruturas macroscópicas constituídas de hifas entrelaçadas, semelhantes a raízes; esclerócios, que são também estruturas macroscópicas formadas pela diferenciação de hifas com endurecimento do córtex; e os clamidiósporos, estruturas microscópicas formadas pela diferenciação de hifas, com formação de parede espessa. Por meio dessas estruturas, os fungos podem permanecer de repouso durante períodos de condições adversas, entrando em atividade quando as condições são favoráveis ao seu desenvolvimento.

435

Qual o significado do termo valoração, empregado em relação às coleções de culturas?

Valoração significa determinar o potencial de uso dos isolados agregando valor aos isolados mantidos na coleção. A determinação do potencial de uso é feita com base nas características do isolado, exigindo o estabelecimento de um banco de caracteres, que é o resultado de todos os estudos realizados em termos taxonômicos e fisiológicos, moleculares, bioquímicos, etc.

Referências

BRASIL. Lei nº 6.894, de 16 de dezembro de 1980. Dispõe sobre a inspeção e a fiscalização da produção e do comércio de fertilizantes, corretivos, inoculantes, estimulantes ou biofertilizantes, remineralizadores e substratos para plantas, destinados à agricultura, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República do Brasil**, Brasília, DF, 17 dez. 1980.

BRASIL. Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República do Brasil**, Brasília, DF, 12 jul. 1989.

CASTRO, M. E. B. de; RIBEIRO, Z. M. de A.; SOUZA, M. L. de; SIHLER, W.; ESTEVES, P. A.; LAZZAROTTI, M. **Manual de curadores de germoplasma - microorganismos: vírus de invertebrados, suínos e aves**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2011. 20 p. (Documentos. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 331).

LAJUDIE, P. M. de; ANDREWS, M.; ARDLEY, J.; EARDLY, B.; JUMAS-BILAK, E.; KUZMANOVIC, N.; LASSALLE, F.; LINDSTRÖM, K.; MHAMDI, R.; MARTÍNEZ-ROMERO, E.; MOULIN, L.; MOUSAVI, S. A.; NESME, X.; PEIX, A.; PULAWSKA, J.; STEENKAMP, E.; STEPKOWSKI, T.; TIAN, C.-F.; VINUESA, P.; WEI, G.; WILLEMS, A.; ZILLI, J.; YOUNG, P. Minimal standards for the description of new genera and species of rhizobia and agrobacteria. **International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology**, 2019. DOI 10.1099/ijsem.0.003426.