



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIENCIAS AGRARIAS  
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA  
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA/FITOTECNIA**

**MARCIO AKIO OOTANI**

**PROSPECÇÃO E ATIVIDADE DE ACTINOBACTÉRIAS DE SOLO E DE  
RIZOSFERA DE PLANTAS DA CAATINGA PARA CONTROLE DO *Colletotrichum*  
*musae* (Berk. & M.A. Curtis) Arx**

**FORTALEZA  
2016**

MARCIO AKIO OOTANI

PROSPECÇÃO E ATIVIDADE DE ACTINOBACTÉRIAS DE SOLO E DE RIZOSFERA  
DE PLANTAS DA CAATINGA PARA CONTROLE DO *Colletotrichum musae* (Berk. &  
M.A. Curtis) Arx

Tese submetida à Coordenação do Curso de  
Pós-Graduação em Agronomia, área de  
Concentração Fitotecnia, da Universidade  
Federal do Ceará, como requisito parcial para  
obtenção do grau de Doutor em Fitotecnia.

Área de concentração: Fitotecnia

Orientador: Prof. Dr. Raimundo Wilane  
Figueiredo

Coorientador: Pesq. Dr. Francisco Marto Pinto  
Viana

FORTALEZA  
2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

O1p Ootani, Marcio Akio.

Prospecção e atividade de actinobactérias de solo e de rizosfera de plantas da caatinga para controle do *colletotrichum musae* (Berk. & m.a. Curtis) arx / Marcio Akio Ootani. – 2016.  
99 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Fitotecnia), Fortaleza, 2016.

Orientação: Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo.  
Coorientação: Prof. Dr. Francisco Marto Pinto Viana.

1. Controle biológico. 2. Antracnose. 3. Metabólito. 4. Streptomyces. I. Título.

CDD 630

---

MARCIO AKIO OOTANI

PROSPECÇÃO E ATIVIDADE DE ACTINOBACTÉRIAS DE SOLO E DE RIZOSFERA  
DE PLANTAS DA CAATINGA PARA CONTROLE DO *Colletotrichum musae* (Berk. &  
M.A. Curtis) Arx

Tese apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Fitotecnia da Universidade  
Federal do Ceará, como requisito parcial à  
obtenção do título de Doutorado em  
Agronomia. Área de concentração: Fitotecnia.

Aprovada em: 22/07/2016.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Pesquisador Dr. Francisco Marto Pinto Viana (Co orientador)  
Embrapa Agroindustria Tropical

---

Prof. Dr. Marcio Cleber de Medeiros Corrêa  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Pesquisador Dr. Francisco das Chagas Oliveira Freire  
Embrapa Agroindustria Tropical

---

Prof. Dr. Antonio Marcos Esmeraldo Bezerra  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

“ Deves ensinar a teus filhos que o chão debaixo de seus pés são as cinzas de nossos antepassados; para que tenham respeito ao país, conta a teus filhos que a riqueza da terra são as vidas da parentela nossa. Ensina a teus filhos o que temos ensinado aos nossos: que a terra é nossa mãe. Tudo quanto fere a terra - fere os filhos da terra. Se os homens cospem no chão, cospem sobre eles próprios.”

Palavras do Cacique Seattle

A Deus,

Que nos momentos difíceis me deu força para prosseguir.

Aos meus pais, Shigeru Ootani e Antonia Ootani (*in memoriam*) pelos ensinamentos e educação.

Aos meus irmãos, Mary Aiko Ootani e Max Shigetoshi Ootani, pela confiança e apoio.

A meu primo Lucas Kosh Naoe que me apoiou e me deu força.

Ao doutor Francisco Marto Pinto Viana por me auxiliar e me guiar e me aconselhar nos meus momentos difíceis.

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal do Ceará (UFC), pela oportunidade de realização deste curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de estudo durante o curso de doutorado.

A Embrapa Agroindústria Tropical, pelo apoio logístico e laboratorial e seu equipamento.

Ao Pesq. Dr. Francisco Marto Pinto Viana, pela amizade, ajuda e orientação que foram essenciais para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Raimundo Wilane de Figueiredo pela orientação.

Ao Pesq. Dr. José Emilson Cardoso pelas boas sugestões, pela ajuda Logística, que melhoraram o conteúdo deste trabalho.

Ao Pesq. Dr Francisco Chagas Oliveira Freire pela ajuda nas correções e ensinamentos e na termino das correções.

A Pesq. Dr Patrícia Bordallo pela orientação e ensinamento no laboratório de biologia molecular.

Aos doutores João Alencar de Sousa e Olmar Baller Weber pela obtenção e cessão das amostras de solo fontes dos microrganismos estudados neste trabalho.

Aos pesquisadores da Embrapa agroindústria tropical

Aos professores do curso de Agronomia/Fitotecnia da UFC, pelos ensinamentos e atenção despendida.

As Técnicas Francisca Samara Assunção Araújo e Evelinne Maria Bastos de Araújo Cavalcanti Feitoza.

Aos amigos Ingrid Bernardo de Lima Coutinho, Olienaide Ribeiro de Oliveira Pinto, Francisco José Teixeira Gonçalves e Joilson Silva Lima

Aos estagiários dos laboratórios Antônio Ageu Cardoso de Araújo e Yuri Braz Rocha e Regis Oliveira.

Aos colegas e amigos do curso de pós-graduação do departamento de fitotecnia.

## RESUMO

A banana é uma das frutas mais consumidas no país, economicamente importante para a agricultura brasileira. No entanto, a produção tem sido limitada principalmente por doenças no campo e perdas na pós-colheita causadas por fungos, incluindo antracnose, causada por *Colletotrichum musae*. O tratamento mais recomendado para o controle dessa doença é o emprego de fungicidas sintéticos, os quais deixam resíduos no fruto e podem levar à resistência do patógeno. A utilização de microrganismos antagonistas e seus metabólitos pode ser uma opção viável para o controle da doença. Entre estes microrganismos as actinobactérias podem ser consideradas uma alternativa, devido à já conhecida produção de metabólitos bioativos do grupo. Estudos sobre a ação antagonista de actinobactérias isoladas de solo e de rizosfera de plantas do bioma Caatinga ainda são escassos. Este trabalho teve como objetivo prospectar e isolar actinobactérias do solo e da região rizosférica de plantas da Caatinga, bem como testar o extrato bruto de isolados bioativos desses representantes desse grupo contra *C. musae*, agente da antracnose em frutos de banana. Para obtenção dos isolados de actinobactérias, as amostras de solo foram submetidas a pré-tratamentos com calor em comparação com as temperaturas ambientes, também com fenol em cinco concentrações. Estes testes foram realizados em diferentes meios seletivos, com quatro repetições. Posteriormente, avaliou-se o efeito da luz na obtenção do número e diversidade de colônias de actinobactérias. Depois deste teste concluiu-se que o fotoperíodo aumenta o desenvolvimento de colônias isoladas actinobactérias. Quanto ao antagonismo dos isolados obtidos em relação a *C. musae*, verificou-se atividade de metabólitos com base na concentração mínima de inibição (MIC) e concentração fungicida mínima (MFC). Para o teste de antagonismo in vivo contra o agente da antracnose da banana, extrato bruto dos isolados de actinobactérias que foram mais ativos no teste de pareamento de colônias foram testados, sendo um deles selecionado pelo seu maior antagonismo, este então, foi testado em diferentes concentrações e formas e tempo de aplicação. Concluiu-se que a melhor concentração do metabólito selecionado para o controle de *C. musae* foi 100 mg.ml<sup>-1</sup>, quando aplicado à superfície do fruto cerca de 1 hora e 30 minutos antes do agente patogênico. Portanto, dentre mais de 300 isolados obtidos, apenas um teve seu metabólito efetivamente ativo no antagonismo ao fungo alvo, sendo esse identificado como *Streptomyces showdoensis*.

**Palavras-chaves:** Controle biológico. Antracnose. Metabólito. *Streptomyces*.

## ABSTRACT

Banana is one of the most consumed fruits in the country, economically important for Brazilian agriculture. However, production has been limited mainly by diseases in the field and post-harvest losses caused by fungi, including anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*. The most recommended treatment for the control of this disease is the use of synthetic fungicides, which leave residues in the fruit and can lead to resistance of the pathogen. The use of antagonistic microorganisms and their metabolites may be a viable option for the control of the disease. Among these microorganisms the actinobacteria can be considered an alternative, due to the already known production of bioactive metabolites of the group. Studies on the antagonistic action of actinobacteria isolated from soil and rhizosphere of plants of the Caatinga biome are still scarce. This work aimed to prospect and isolate actinobacteria from the soil and the rhizospheric region of Caatinga plants, as well as to test the crude extract of bioactive isolates of these representatives of this group against *C. musae*, anthracnose agent in banana fruits. To obtain the actinobacteria isolates, the soil samples were submitted to pre-treatments with heat in comparison with the ambient temperatures, also with phenol in five concentrations. These tests were performed in different selective media, with four replicates. Subsequently, the effect of light on the number and diversity of actinobacterial colonies was evaluated. After this test it was concluded that the photoperiod increases the development of isolated actinobacteria colonies. As for the antagonism of the isolates obtained in relation to *C. musae*, metabolic activity was observed based on minimum inhibition concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC). For the in vivo antagonism test against the banana anthracnose agent, crude extract of the actinobacteria isolates that were most active in the colony pairing test were tested, one of them being selected for its greater antagonism, it was then tested in different Concentrations and forms and time of application. It was concluded that the best concentration of the selected metabolite for the control of *C. musae* was 100 mg.ml<sup>-1</sup>, when applied to the surface of the fruit about 1 hour and 30 minutes before the pathogen. Therefore, of the more than 300 isolates obtained, only one had its metabolite effectively active in the antagonism to the target fungus, which is identified as *Streptomyces showdoensis*.

**Keywords:** Biological control. Anthracnose. Metabolites. *Streptomyces*.

## SUMARIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b>	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>OBTENÇÃO DE ACTINOBACTÉRIAS DE SOLO DA CAATINGA ANTAGONISTAS A <i>Colletotrichum musae</i>.</b>	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>OBTENÇÃO DAS ACTINOBACTÉRIAS DA RIZOSFERA DE PLANTAS DA CAATINGA ANTAGONISTA A <i>Colletotrichum musae</i></b>	<b>43</b>
<b>4</b>	<b>EFEITO DE UM METABOLITO DE EMB_ACTB_171 DA RIZOSFERA DE PLANTAS DA CAATINGA CONTRA <i>Colletotrichum Musae</i> AGENTE CAUSAL ANTRACNOSE DOS FRUTOS DA BANANEIRA</b>	<b>56</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO GERAL</b>	<b>81</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>82</b>

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A banana é a fruta mais consumida no Brasil e vem se despontando nos perímetros irrigados do nordeste brasileiro (BARROS MESQUITA *et al.*, 2016; FAO, 2016), contudo, o tratamento pós-colheita desses frutos ainda é realizado, principalmente, com o emprego de fungicidas. No controle da antracnose, principal doença pós-colheita da fruta, os agrotóxicos, além de deixar resíduos no fruto, podem causar a resistência a doenças a esses produtos (D'AQUINO *et al.*, 2006). O uso de controle alternativos tem sido pesquisado por vários autores utilizando microrganismos ou seus metabólitos, entre esse encontramos as actinobactérias (ISMET, 2012; SOUZA *et al.*, 2014; SINGH & GAUR, 2016).

As actinobactérias pertencem à ordem Actinomycetales, que é um grupo heterogêneo de bactérias filamentosas, gram-positivas, de DNA com número de bases nitrogenada C+G superior a 50% (GOODFELLOW *et al.*, 2012; ROSENBERG *et al.*, 2014). As colônias são constituídas pelo micélio vegetativo, cuja extremidade esporos assexuados com aparência aveludada (BARKA *et al.*, 2016). As colônias produzem pigmentos aderidos ao micélio ou esses são excretados ao meio (GOODFELLOW *et al.*, 2012; VARALAKSHMI *et al.*, 2014).

As actinobactérias são encontradas na natureza mais comumente no solo, atuando principalmente na reciclagem de nutrientes e na defesa de plantas (CHEAH *et al.*, 2015; QIN *et al.*, 2015), estudo a respeito desse grupo de microrganismos, podem ser achados em diferentes ambientes; de solo rizosférico (MINGMA *et al.*, 2014) a areia de praia do deserto (LIN *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2013). Dentro os ambientes propícios para a prospecção desses microrganismos, o Semiárido se destaca pela baixa pluviosidade que favorece plantas e microrganismos produzirem mecanismos de adaptação (LANCONI *et al.*, 2013).

A Caatinga é considerada uma região semiárida com ambiente extremo e quente (JUNIOR *et al.*, 2011). Com predominância de vegetação arbórea, o dossel é descontínuo, espinhoso e são decíduos (SANTOS *et al.*, 2012). Plantas adaptadas com grande diversidade e interação muito forte com o microrganismo em simbiose com a raiz da planta (SILVALLACERDA *et al.*, 2016). As actinobactérias são uma fonte de metabólitos bioativos já confirmada pela pesquisa na obtenção de diversos antibióticos empregados no tratamento de bacterioses humanas, portanto é possível se encontrar nesse grupo de microrganismos isolados antagônicos a fitopatógenos, principalmente em ambiente adverso como a Caatinga, bioma pouco explorado nesse sentido.

O isolamento das actinobactéria desses ambientes varia muito, por isso são realizados com a utilização de meios de cultura seletivo e métodos de pré-tratamento do substrato (ZHANG e ZHANG, 2011), e, para minimizar as interferências entre microrganismos de outros grupos, é feito o isolamento baseado em diluições em série e a utilização de meios seletivos (TIWARI e GUPTA, 2013). Malek *et al.* (2014) verificou que o meio seletivo com maior número de colônias de actinobactérias é o meio de sais inorgânicos com amido (IPS4) (31,7%), contudo agar-amido-extrato de levedura (SYE) e agar-amido-caseina (Aca) tiveram maior diversidade de actinobactérias. Esta variação provavelmente reflete o efeito de composição do meio e do pre-tratamento do substrato (ZUCCHI *et al.*, 2012; SINEVA e TEREKHOVA, 2015).

As actinobactérias tem potencial biotecnológico na produção de enzimas e outros produtos como: uréase (SCHARFEN, 1973), lipase (HASAN *et al.*, 2009), pectinase (RAJESH e RAVISHANKAR RAI, 2013), amilase (SER *et al.*, 2015), quitinase (GONZALEZ-FRANCO *et al.*, 2003) e fosfatase (QIN *et al.*, 2015). Esses microrganismos têm sido utilizados no controle de fitopatógenos, pois tem potencial de produção de metabolitos secundários com propriedades antifúngicas (PATIL *et al.*, 2014; SOUZA *et al.*, 2014; PHUAKJAIPHAEO *et al.*, 2016).

Vários metabólitos secundários com atividade antimicrobiana, como *Streptomyces* sp. demonstraram atividade antifúngica contra vários fitopatógenos fúngico do solo (GANGWAR e KATARIA, 2013; VINAY GOPAL *et al.*, 2013). Subramani *et al.* (2008) isolou e caracterizou compostos bioativos a partir de *Streptomyces* sp. com atividade inibitória contra o crescimento micelial de *Rhizoctonia solani* e *Alternaria alternata*. Uma proteína antifúngica de bactéria marinha isolada de *Streptomyces* sp. cepa AP77 teve ação inibitória contra *Pythium porphyrae*, agente causador da doença de podridão vermelha Porphyra (WOO *et al.*, 2002; WOO & KAMEI, 2003)

Baseado nas justificativas citadas esse trabalho teve como objetivo de obter e selecionar actinobactérias antagonistas e seus metabolitos secundários como uma alternativa no controle do fungo *Colletotrichium musae*, importante agente patogênico na pós-colheita.

## **REVISÃO DE LITERATURA**

### **Cultura da Banana**

A banana tem grande importância econômica e social no Brasil e no mundo, sendo que a produção nacional supera 6,6 milhões de toneladas da fruta, numa área de 492 mil ha, o que representa 9,2% da produção global de cento e vinte e nove países. Os principais países produtores são a Índia, Brasil, Equador, China e Filipinas, representando 58% da produção mundial (FAO, 2016). No contexto nacional, a banana é produzida em maior quantidade no Nordeste (35%), sendo esta seguida pelas regiões Sudeste (29%), Norte (16%), Sul (15%) e Centro-Oeste (5%) (IBGE, 2016). Gerando um rendimento médio de 14.144 kg/ha (BELLAMY, 2013).

A cultura da banana constitui uma importante fonte da dieta alimentar para população, sendo a produção também toda consumida no mercado interno Brasileiro (ARVANITOYANNIS e MAVROMATIS, 2009), fixadora de mão de obra no meio rural e geradora de divisas para o país (BELLAMY, 2013), contudo a produção é limitada por diversos fatores principalmente as doenças pós colheita entre elas se destaca a podridão do fruto, agente causal *Colletotrichum musae*.

### **Antracnose da banana**

A antracnose (*Colletotrichum musae* Berk. & MA Curtis) é uma das doenças mais importantes e distribuída cosmopolitamente entre os polos produtivos dessa fruta (ABD-ELSALAM *et al.*, 2010). Essa doença causa perdas significativas na produção, manifestando-se em frutas maduras (ZAKARIA *et al.*, 2009). O problema tem início pre-colheita, quando os conídios ficam dispersos no ar e são depositados sobre as frutas, germinam, formam os apreensórios e consequentemente, penetram nas mesmas (FAISAL *et al.*, 2013), Formando sintomas inicial de pequenas manchas de coloração castanha, que depois tomam a proporção de lesões escuras e deprimidas, aparecem frutificações fúngica que variam de coloração alaranjada, caracterizando os acérvulos de *Colletotrichum* (ABD-ELSALAM *et al.*, 2010).

O uso de produtos químico no manejo integrado dessa doença é frequente aplicado na forma de imersão ou por atomização nas frutas (GANG *et al.*, 2015), contudo o controle físico é muito usado principalmente na banana como a utilização de hidroterapia e a refrigeração, visando estender a vida de longa das frutas (SPONHOLZ *et al.*, 2004). O controle alternativo pode ser usado visando a menor contaminação dos frutos por agrotóxico, além de não contaminar o meio ambiente.

## **Actinobactéria do Solo e rizosferico**

A classe actinobactéria pode ser dividida em 4 subclasses, 5 ordens, subordens, 50 famílias, 197 gêneros e 1936 espécies (ROSENBERG *et al.*, 2014) (BORA; WARD, 2009), possui características peculiares, são bactérias gram-positivas, a formação de hifas multinucleadas, micélio ramificado. Possuem alto teor de G+C em seu DNA, com valores 51% para algumas *Corynebacterias* a mais de 70% para *Streptomyces* e *Frankia* (VENTURA *et al.*, 2007).

As actinobactérias são encontradas no solo, contudo podem ser encontrados em vários estratos e locais, sendo responsáveis por mais de 20 % da flora microbiana da rizosfera (POLYANSKAYA *et al.*, 2003; SHIROKIKH *et al.*, 2004). Esses microrganismos exercem papéis importantes neste ecossistema, na fixação de nitrogênio em plantas não-leguminosas e na proteção da planta contra microrganismos patogênicos (LINDERMANN & GLOVER, 2003). No solo rizosferico se utilizam de exsudatos liberados pela planta para a síntese de antibióticos (TOKALA *et al.*, 2002), enzimas como quitinases e glucanases (GOMES *et al.*, 2000; FAYAD *et al.*, 2001) que podem afetam o crescimento de fungos. Podem ser encontrados em vários extratos do solo e na rizosfera.

## **Caatinga**

A Caatinga é um bioma pouco explorado que compreende uma região do nordeste brasileiro, localizada na região semiárida, com aproximadamente 844.453 Km<sup>2</sup>, 10% do território nacional (IBAMA; 2013). O clima é predominante seco e quente pouca chuva, podendo as chuvas ser concentradas em dezembro e janeiro; em março e abril ou em maio e junho (GORLACH-LIRA & COUTINHO, 2007; TROVÃO *et al.*, 2007).

A vegetação é da caatinga é formada principalmente, estrato arbóreo é relativamente baixo vegetação hipoxerófila, arbustos fino e espinhoso representados principalmente pelas cactáceas, leguminosas e as euforbiáceas (SÁ *et al.*, 2003; QUEIROZ, 2006). Diversas reações metabólicas podem ocorrer nesse bioma, pela ação da mesofauna e microfauna do solo e da rizosfera. Estes microrganismos simbióticos desempenham importante papel nos processos de ciclagem de nutrientes e decomposição da matéria orgânica do solo (BEERLING & BERNER, 2005; TAYLOR *et al.*, 2009).

## Controle Biológico

O controle biológico vem como alternativa, pois diversas espécies de microrganismos como de fungos e bactérias têm sido utilizados como agentes de biocontrole de fungos fitopatogênicos (GIL *et al.*, 2008). O controle biológico consiste na utilização de microrganismos na redução da densidade de inóculo ou da capacidade de produção de doença pelo patógeno (BAKER; COOK, 1974). No controle de fungos e bactérias, os quais podem promover grandes perdas na produção agrícola. Foi observado o uso de actinobactérias no controle de *Rhizoctonia solani* e na murcha bacteriana do tomateiro (SABARATNAM & TRAQUAIR, 2002; CARRER, 2002).

Taechowisan *et al.* (2003) utilizando a actinobactéria controlou o *Fusarium oxysporum* causador da murchadeira em trigo e de *Colletotrichum musae* na banana. Além do controle de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho (BRESSAN; FIGUEIREDO, 2003). Muitos outros trabalhos ressaltam o potencial desses microrganismos como agentes de biocontrole de doenças (GOMES *et al.*, 2000; SOUSA; SOARES, 2008). No mercado já são vendidos os biofungicida comercial (Mycostop) composto por *Streptomyces griseoviridis*, é indicado para a podridão de raízes causada por *Fusarium spp* e para outros fungos, em plantas ornamentais, sendo também indicado para o controle de doenças fúngicas em *Pinus sp* (KHALIL e ALSANIUS, 2006).

## Metabolitos Secundário

As actinobactérias são grandes produtores de muitos metabólitos secundários, utilizados principalmente na exploração aplicada a áreas farmacológica na obtenção de antibióticos e enzimas (NEVES & GAVA, 2008; RAJA & PRABAKARANA, 2011). Muitos dos metabolismos secundários das actinobactérias podem ter efeito antimicrobiano sobre outros microrganismos em dose pequenas. Estima-se que o grupo das actinobactérias principalmente o gênero *Streptomyces* seja responsável por 70% dos antibióticos (WU *et al.*, 2015).

As vias biosintética não estão totalmente esclarecidas quanto à forma como ocorre a produção dos metabolitos secundários nas actinobactérias, mas supõem se tratar de vias alternativa, que pode ser acionada como mecanismo de defesa a microrganismo (BILYK e LUZHETSKYY, 2016). Progresso na pesquisa do metabólito secundário analisando vias, bem como tecnologias de biologia Sintética, nos últimos anos, várias vias biosintética de

antibióticos foram elucidadas em detalhe (DAS e KHOSLA, 2009), contudo muitos pesquisadores têm achado inúmeros metabolitos bioativos a fungos e bactérias (VASCONCELOS *et al.*, 2015; XU *et al.*, 2015).

Zhang *et al.* (2010) verificaram que o ácido - 5 - metil - 2 - hexenóico 5 - hidroxilo isolado de *Actinoplanes sp.* HBDN08 sob condições de estufa demonstraram que o metabolito controlou as doenças causadas por *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cucumerinum* e *Corynespora Cassiicola* com 71,42; 78,63 e 65,13 % respectivamente. As actinobactérias são produtoras de antifúngicos relatados por outros autores (KEIKHA *et al.*, 2015; SOUAGUI *et al.*, 2015; LAHOUUM *et al.*, 2016).

## REFERENCIAS

- ABD-ELSALAM, K. A.; ROSHDY, S.; AMIN, O. E.; RABANI, M. First morphogenetic identification of the fungal pathogen *Colletotrichum musae* (Phyllachoraceae) from imported bananas in Saudi Arabia. **Genetics and Molecular Research**, [S.I], v. 9, n. 4, p. 2335-2342, 2010.
- ARVANITOYANNIS, I. S.; MAVROMATIS, A. Banana cultivars, cultivation practices, and physicochemical properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 49, n. 2, p. 113-135, Feb 2009.
- BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco:W. H. Freeman, 1974. 433 p.
- BARKA, E. A.; VATSA, P.; SANCHEZ, L.; GAVEAU-VAILLANT, N.; JACQUARD, C.; KLENK, H. P.; CLEMENT, C.; OUHDOUCH, Y.; VAN WEZEL, G. P. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, [S.I], v. 80, n. 1, p. 1-43, Mar 2016.
- BARROS MESQUITA, C.; LEONEL, M.; FRANCO, C. M.; LEONEL, S.; GARCIA, E. L.; DOS SANTOS, T. P. Characterization of banana starches obtained from cultivars grown in Brazil. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.I], v. 89, p. 632-639, Aug 2016.
- BEERLING, D. J.; BERNER, R. A. Feedbacks and the coevolution of plants and atmospheric CO<sub>2</sub>. **Proceedings of the National Academy of Sciences. USA**. v.102, p.1302-1305, 2005.
- BELLAMY, A. S. Banana production systems: identification of alternative systems for more sustainable production. **Ambio**, [S.I], v. 42, n. 3, p. 334-343, Apr 2013.
- BILYK, O.; LUZHETSKYY, A. Metabolic engineering of natural product biosynthesis in actinobacteria. **Current Opinion in Biotechnology**, [S.I], v. 42, p. 98-107, 12// 2016.

BORA, N. M.; WARD, A. C. The actinobacteria. In: GOLDMAN, E.; GREEN, L. H. (Ed). **Practical handbook of microbiology**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2009, p. 373- 443.

BRESSAN, W.; FIGUEIREDO, J. E. F. **Controle de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho por actinomicetos**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2003. 4.p. Comunicado Técnico ISSN 1679-0162. Disponível em: <<http://www.cnpmes.embrapa.br/publicacoes/publica/comuni65.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2008.

CARRER, R. F. **Actinomicetos como agentes de bioncontrole de doenças e como promotores de crescimento do tomateiro**. 2002. 78 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) -Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

CHEAH, Y. K.; LEE, L. H.; CHIENG, C. Y. C.; WONG, V. L. C. M. Isolation, identification and screening of Actinobacteria in volcanic soil of Deception Island (the Antarctic) for antimicrobial metabolites. **Polish Polar Research**, [S.I], v. 36, n. 1, p. 67-78, 2015.

D'AQUINO, S.; SCHIRRA, M.; PALMA, A.; ANGIONI, A.; CABRAS, P.; MIGHELI, Q. Residue levels and effectiveness of pyrimethanil vs imazalil when using heated postharvest dip treatments for control of *Penicillium* decay on citrus fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.I], v. 54, n. 13, p. 4721-4726, Jun 28 2006.

DAS, A.; KHOSLA, C. Biosynthesis of aromatic polyketides in bacteria. **Accounts of Chemical Research**, [S.I], v. 42, n. 5, p. 631-639, May 19 2009.

FAISAL, P. M.; PREMA, R.; NAGENDRAN, K.; GANDHI, K.; RAGUCHANDER, T.; PRABAKAR, K. A specific and sensitive method for the detection of *Colletotrichum musae* in banana fruit. **Revista Iberoamericana De Micologia**, Feb 9 2013.

FAOSTAT. **Produção Mundial de Banana**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 05 Abr. 2016.

FAYAD, K. P.; SIMÃO-BEAUNOIR, A.-M.; GAUTHIER, A.; LECLERC, C.; MAMADY, H.; BEAULIEU, C.; BRZEZINSKI, R. Purification and properties of a  $\beta$ -1,6-glucanase from *Streptomyces* sp. EF-14, an actinomycete antagonistic to *Phytophthora* spp. **Applied Microbiology & Biotechnology**, New York, v. 57, p. 117-123, Oct. 2001.

GANG, G. H.; CHO, H. J.; KIM, H. S.; KWACK, Y. B.; KWAK, Y. S. Analysis of Fungicide Sensitivity and Genetic Diversity among *Colletotrichum* Species in Sweet Persimmon. **Journal Plant Pathology**, [S.I], v. 31, n. 2, p. 115-122, Jun 2015.

GANGWAR, M.; KATARIA, H. Diversity, antifungal and plant growth promoting activity of actinomycetes from rhizosphere soils of medicinal plants. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, [S.I], v. 83, n. 12, p. 1289-1294, Dec 2013.

GIL, S. V.; PEDELINI, R.; ODDINO, C.; ZUZA, M.; MARINELLI, A.; MARCH, G. J. The role of potential biocontrol agents in the management of peanut root rot in Argentina. **Journal Plant Pathology**, [S.I], v.90, p.35-41, 2008.

GOMES, R. C.; SEMÊDO, L. T. A. S.; SOARES, R. M. A.; ALVIANO, C. S.; LINHARES, L. F.; COELHO, R. R. R. Chitinolytic activity of actinomycetes from a cerrado soil and their potential in biocontrol. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 30, n. 2, p. 146-150, 2000.

GONZALEZ-FRANCO, A. C.; DEOBALD, L. A.; SPIVAK, A.; CRAWFORD, D. L. Actinobacterial chitinase-like enzymes: profiles of rhizosphere versus non-rhizosphere isolates. **Canadian Journal of Microbiology**, [S.I], v. 49, n. 11, p. 683-698, Nov 2003. GOODFELLOW, M.; KÄMPFER, P.; BUSSE, H.-J.; TRUJILLO, M. E.; SUZUKI, K.-I.; LUDWIG, W.; B., W. W. **Bergey'S Manual® of Systematic Bacteriology Second Edition The Actinobacteria**. New York Dordrecht Heidelberg London: 2012. 2015p.

GORLACH-LIRA, K.; COUTINHO, H. D. M. Population dynamics and extracellular enzymes activity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from semiarid soil of northeastern Brazil. **Brazilian Journal of microbiology**, [S.I], v. 38, p. 135-141, 2007.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Methods for detection and characterization of lipases: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 6, p. 782-98, Dec 2009.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis **Ecossistemas brasileiros: Caatinga**. 2012. Disponível em:  
<http://www.ibama.gov.br/ecossistemas/caatinga.htm> Acesso em: 09 de Agosto 2013.  
 IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**, v.29, n.2, p. 1-93, 2016.

ISMET, A. Studies of actinomycetes for biological control of *Colletotrichum musae* pathogen during post harvest anthracnose of banana. **African Journal of Microbiology Research**, [S.I], v. 6, n. 17, p. 3879-3886, 2012.

JUNIOR, W. S.; LADIO, A. H.; ALBUQUERQUE, U. P. Resilience and adaptation in the use of medicinal plants with suspected anti-inflammatory activity in the Brazilian Northeast. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.I], v. 138, n. 1, p. 238-252, Oct 2011.

KEIKHA, N.; AYATOLLAHI MOUSAVI, S. A.; NAKHAEI, A. R.; YADEGARI, M. H.; SHAHIDI BONJAR, G. H.; AMIRI, S. In Vitro Evaluation of Enzymatic and Antifungal Activities of Soil-Actinomycetes Isolates and Their Molecular Identification by PCR. **Jundishapur Journal of Microbiology**, [S.I], v. 8, n. 5, p. e14874, May 2015.

KHALIL, S.; ALSANIUS, B. W. Biochemical characterization of biocontrol agents used for control of root pathogens. **Communications in agricultural and applied biological sciences**, [S.I], v. 71, n. 3, p. 979-984, 2006.

LAHOUM, A.; AOUICHE, A.; BOURAS, N.; VERHEECKE, C.; KLENK, H. P.; SABAOU, N.; MATHIEU, F. Antifungal activity of a Saharan strain of *Actinomadura* sp. ACD1 against toxigenic fungi and other pathogenic microorganisms. **Journal de Mycologie Médicale**, [S.I], p. 1-8, Mar 17 2016.

LANCONI, M. D.; TAKETANI, R. G.; KAVAMURA, V. N.; DE MELO, I. S. Microbial community biogeographic patterns in the rhizosphere of two Brazilian semi-arid leguminous

trees. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 29, n. 7, p. 1233-1241, Jul 2013.

LIN, L.; TAN, Y.; CHEN, F.; ZHOU, H.; WANG, Y.; HE, W.; WANG, Y. Diversity of culturable actinomycetes in sea deposit of Tiger beach at Bohai Bay, Dalian, China. **Wei Sheng Wu Xue Bao**, [S.I], v. 51, n. 2, p. 262-269, Feb 2011.

LINDERMANN, W. C.; GLOVER, C. R. Nitrogen fixation by legumes. **Cooperative Extension Service - College of Agriculture and home Economics**. Guide A-129, May 2003, 4p.

MALEK, N. A.; CHOWDHURY, A. J. K.; ZAINUDDIN, Z.; ABIDIN, Z. A. Z. Selective isolation of actinomycetes from mangrove florest of pahang, Malasia. **International Conference on Agriculture, Biology and Environmental Sciences (ICABES'14)**, v. 8, p. 9-13, 2014.

MINGMA, R.; PATHOM-AREE, W.; TRAKULNALEAMSAI, S.; THAMCHAIPENET, A.; DUANGMAL, K. Isolation of rhizospheric and roots endophytic actinomycetes from Leguminosae plant and their activities to inhibit soybean pathogen, *Xanthomonas campestris* pv. *glycine*. **World J Microbiol Biotechnol**, [S.I], v. 30, n. 1, p. 271-280, Jan 2014.

NEVES, M. C. P.; GAVA, C. A. T. **Actinomicetos no solo**. Universidade Federal de Viçosa (UFV). Viçosa MG, 2008.

PATIL, N. N.; WAGHMODE, M. S.; GAIKWAD, P. S.; GAJBHIYE, M. H.; GUNJAL, A. B.; NAWANI, N. N.; KAPADNIS, B. P. Potential of *Microbispora* sp. V2 as biocontrol agent against *Sclerotium rolfsii*, the causative agent of southern blight of *Zea mays* L (Baby corn)--in vitro studies. **Indian journal of experimental biology**, [S.I], v. 52, n. 11, p. 1147-1151, Nov 2014.

PHUAKJAIPHAEAO, C.; CHANG, C. I.; RUANGWONG, O.; KUNASAKDAKUL, K. Isolation and identification of an antifungal compound from endophytic *Streptomyces* sp. CEN26 active against *Alternaria brassicicola*. **Letters in Applied Microbiology**, [S.I], v. 3, n. 1, p. 38-44, May 2016.

POLYANSKAYA, L. M.; OZERSKAYA, S. M.; KOCHKINA, G. A.; IVANUSHKINA, N. E.; GOLOVCHENKO, A. V.; ZVYAGINTSEV, D. G. The Abundance and structure of the rootassociated microbial complexes of two greenhouse rose cultivars. **Microbiology**, New York, v. 72, n. 4, p.554-562, 2003.

QIN, S.; MIAO, Q.; FENG, W.-W.; WANG, Y.; ZHU, X.; XING, K.; JIANG, J.-H. Biodiversity and plant growth promoting traits of culturable endophytic actinobacteria associated with *Jatropha curcas* L. growing in Panxi dry-hot valley soil. **Applied Soil Ecology**, [S.I], v. 93, p. 47-55, Sep 2015.

QUEIROZ, L.P. Flowering plants of the Brazilian Semi-Arid. In: QUEIROZ, L.P.; RAPINI, A.; GIULIETTI, A.M. (Ed.). **Towards greater knowledge of the Brazilian semi-arid biodiversity**. Brasília: Ministério de Ciência e Tecnologia, cap. 6, p. 45-50, 2006.

RAJA, A.; PRABAKARANA, P. Actinomycetes and Drug-An overview. **American Journal of Drug Discovery and development.** [S.I], v.1, n. 2, p. 74-84, 2011.

RAJESH, P. S.; RAVISHANKAR RAI, V. Hydrolytic enzymes and quorum sensing inhibitors from endophytic fungi of Ventilago madraspatana Gaertn. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [S.I], v. 2, n. 2, p. 120-124, April 2013.

ROSENBERG, E.; DELONG, E. F.; LORY, S.; STACKEBRANDT, E.; THOMPSON, F. **The prokaryotes: Actinobacteria**. 2014. 1-1061p.

SÁ, I.B.; RICHÉ, G.R.; FOTIUS, G.A. As paisagens e o processo de degradação do semiárido nordestino. In: SILVA, J.M.C.; FONSECA, M.T.; LINS, L.V. (Ed.).

**Biodiversidade da Caatinga:** áreas e ações prioritárias para a conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2003. 17-36 p.

SABARATNAM, S.; TRAQUAIR, J.A. Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of rhizoctonia damping-off in tomato transplants. **Biological Control**, San Diego, v. 23, n. 3, p. 245-253, 2002.

SANTOS, R. M.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; EISENLOHR, P. V.; QUEIROZ, L. P.; CARDOSO, D. B.; RODAL, M. J. Identity and relationships of the Arboreal Caatinga among other floristic units of seasonally dry tropical forests (SDTFs) of north-eastern and Central Brazil. **Ecology and Evolution**, [S.I], v. 2, n. 2, p. 409-428, Feb 2012.

SCHARFEN, J. Urease as a useful criterion in the classification of microaerophilic actinomycetes. **Zentralbl Bakteriol Orig A**, [S.I], v. 225, n. 1, p. 89-94, Oct 1973.

SER, H.-L.; TAN, W.-S.; CHENG, H.-J.; YIN, W.-F.; CHAN, K.-G.; LEE, L.-H. Draft genome of amylolytic actinobacterium, *Sinomonas humi* MUSC 117T isolated from intertidal soil. **Marine Genomics**, [S.I], v. 24, Part 3, p. 209-210, Dez 2015.

SHIROKIKH, I. G.; SHIROKIKH, A. A.; RODINA, N. A.; POLYANSKAYA, L. M.; BURKANOVA, O. A. Effects of soil acidity and aluminum on the structure of microbial biomass in the Rhizosphere of Barley. **Eurasian Soil Science**, New York, v. 37, n. 8, p. 839-843. 2004.

SILVA-LACERDA, G. R.; SANTANA, R. C.; VICALVI-COSTA, M. C.; SOLIDONIO, E. G.; SENA, K. X.; LIMA, G. M.; ARAUJO, J. M. Antimicrobial potential of actinobacteria isolated from the rhizosphere of the Caatinga biome plant *Caesalpinia pyramidalis* Tul. **Genetics and Molecular Research**, [S.I], v. 15, n. 1, p. 1-12, 2016.

SINEVA, O. N.; TEREKHOVA, L. P. Selective Isolation of Rare Actinomycetes from Soil. **Antibiot Khimioter**, [S.I], v. 60, n. 7-8, p. 27-33, 2015.

SINGH, S. P.; GAUR, R. Evaluation of antagonistic and plant growth promoting activities of chitinolytic endophytic actinomycetes associated with medicinal plants against *Sclerotium rolfsii* in chickpea. **Journal of Applied Microbiology**, [S.I], v. 7, n. 6, p. 1-31, May 2016.

SOUAGUI, Y.; TRITSCH, D.; GROSDEMANGE-BILLIARD, C.; KECHA, M. Optimization of antifungal production by an alkaliphilic and halotolerant actinomycete,

*Streptomyces* sp. SY-BS5, using response surface methodology. **Journal de Mycologie Médicale**, [S.I], v. 25, n. 2, p. 108-115, Jun 2015.

SOUZA, C. da S.; SOARES, A.C.F.; GARRIDO, M. da S. Characterization of *streptomyces* with potencial to promote plant growth and biocontrol. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 1, p. 50-55, 2008.

SOUZA, A.; CRUZ, J. C.; SOUSA, N. R.; PROCOPIO, A. R.; SILVA, G. F. Endophytic bacteria from banana cultivars and their antifungal activity. **Genetics and Molecular Research**, [S.I], v. 13, n. 4, p. 8661-8670, 2014.

SPONHOLZ, C.; BATISTA, U. G.; ZAMBOLIM, L.; SALOMÃO, L. C. C.; CARDOSO, A. A. Efeito do tratamento hidrotérmico e químico de frutos de banana ‘Prata’ no controle da antracnose em pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 480-485, 2004. SUBRAMANI, R.; MANI, J.; NARAYANASAMY, M. Diversity and antifungal activity of marine actinomycetes. **Journal of Biotechnology**, [S.I], v. 136, Supplement, p. S532, Out 2008.

TAECHOWISAN, T.; PEBERDY, J.F.; LUMYONG, S. Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal activity. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, New York, v.19, n.4, p.381-385, 2003.

TAYLOR, L.L.; LEAKE, J.R.; QUIRK, J.; HARDY, K.; BANWARTS, S.A.; BEERLING, D.J. Biological weathering and the long-term carbon cycle: integrating mycorrhizal evolution and function into the current paradigm. **Geobiology**, [S.I], v.7, p.171-191, 2009.

TIWARI, K.; GUPTA, R. K. Diversity and isolation of rare actinomycetes: an overview. **Critical Reviews in Microbiology**, [S.I], v. 39, n. 3, p. 256-294, Aug 2013.

TOKALA, R.K.; STRAP, J.L.; JUNG, C.M.; CRAWFORD, D.L.; SALOVE, M.H.; DEOBALD, L.A.; BAILEY, J.F.; MORRA, M.J. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the Pea Plant (*Pisum sativum*). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 5, p. 2161-2171, 2002.

TROVÃO, D. M. B. M.; FERNANDES, P. D.; ANDRADE, L. A.; DANTAS NETO, J. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande RN, v. 11, n. 3, p. 307–311, 2007.

VARALAKSHMI, T.; SEKHAR, K. M.; CHARYULU, P. B. B. Taxonomic studies and phylogenetic characterization of potential and pigmented antibiotic producing actinomycetes isolated from rhizosphere soils. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, [S.I], v. 6, n. 6, p. 511-519, 2014.

VASCONCELOS, N. M.; FONTES, J. M.; LINS, M. R.; BERNARDO, G. R.; ARAUJO, J. M.; LIMA, G. M. *Streptomyces ansochromogenes* Tur-10 produces a substance with antifungal bioactivity. **Genetics and Molecular Research**, [S.I], v. 14, n. 2, p. 5435-5444, 2015.

VENTURA, M.; CANCHAYA. C.; TAUCH, A.; CHANDRA, G.; FITZGERALD, G. F.; CHATER, K.F. AND VAN SINDEREN, D. Genomics of Actinobacteria: Tracing the

Evolutionary History of an Ancient Phylum. **Microbiology and molecular biology review**, [S.I], v.71, n. 3, p.495-548, Set. 2007.

VINAY GOPAL, J.; THENMOZHI, M.; KANNABIRAN, K.; RAJAKUMAR, G.; VELAYUTHAM, K.; RAHUMAN, A. A. Actinobacteria mediated synthesis of gold nanoparticles using *Streptomyces* sp. VITDDK3 and its antifungal activity. **Materials Letters**, [S.I], v. 93, p. 360-362, Jan 2013.

WOO, J. H.; KAMEI, Y. Antifungal mechanism of an anti-*Pythium* protein (SAP) from the marine bacterium *Streptomyces* sp. strain AP77 is specific for *Pythium porphyrae*, a causative agent of red rot disease in *Porphyra* spp. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 62, n. 4, p. 407-413, Sep 2003.

WOO, J. H.; KITAMURA, E.; MYOUGA, H.; KAMEI, Y. An antifungal protein from the marine bacterium *streptomyces* sp. Strain AP77 is specific for *Pythium porphyrae*, a causative agent of red rot disease in *Porphyra* spp. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 68, n. 6, p. 2666-2675, Jun 2002.

WU, C.; DU, C.; GUBBENS, J.; CHOI, Y. H.; VAN WEZEL, G. P. Metabolomics-Driven Discovery of a Prenylated Isatin Antibiotic Produced by *Streptomyces* Species MBT28. **Journal of Natural Products**, [S.I], v. 78, n. 10, p. 2355-2363, Oct 2015.

XU, B.; CHEN, W.; WU, Z. M.; LONG, Y.; LI, K. T. A Novel and Effective *Streptomyces* sp. N2 Against Various Phytopathogenic Fungi. **Applied biochemistry and biotechnology**, [S.I], v. 177, n. 6, p. 1338-1347, Nov 2015.

ZAKARIA, L.; SAHAK, S.; ZAKARIA, M.; SALLEH, B. Characterisation of *colletotrichum* species associated with anthracnose of banana. **Tropical Life Sciences Research**, Universiti Sains Malaysia, v. 20, n. 2, p. 119-125, Dec 2009.

ZHANG, J.; WANG, X.-J.; YAN, Y.-J.; JIANG, L.; WANG, J.-D.; LI, B.-J.; XIANG, W.-S. Isolation and identification of 5-hydroxyl-5-methyl-2-hexenoic acid from *Actinoplanes* sp. HBDN08 with antifungal activity. **Bioresource Technology**, [S.I], v. 101, n. 21, p. 8383-8388, Nov 2010.

ZHANG, J.; ZHANG, L. Improvement of an Isolation Medium for Actinomycetes. **Modern Applied Science**, [S.I], v. 5, n. 2, 2011.

ZHANG, Y.; XIA, Z.; CAO, X.; LI, J.; ZHANG, L. New isolation methods and phylogenetic diversity of actinobacteria from hypersaline beach in Aksu. **Wei Sheng Wu Xue Bao**, [S.I], v. 53, n. 8, p. 798-808, Aug 2013.

ZUCCHI, T. D.; BONDA, A. N.; FRANK, S.; KIM, B. Y.; KSHETRIMAYUM, J. D.; GOODFELLOW, M. Amycolatopsis bartoniae sp. nov. and Amycolatopsis bullii sp. nov., mesophilic actinomycetes isolated from arid Australian soils. **Antonie Van Leeuwenhoek**, [S.I], v. 102, n. 1, p. 91-98, Jun 2012.

## 2 OBTENÇÃO DE ACTINOBACTÉRIAS DE SOLO DA CAATINGA ANTAGONISTAS A *Colletotrichum musae*.

### RESUMO

Actinobactérias são microrganismos que sobrevivem sob diferentes condições ambientais por longo tempo e que, por suas qualidades fisiobioquímicas, tem sido estudadas como fonte de metabólitos ativos em prospecções biotecnológicas com diversos fins. Os isolados de actinobactérias obtidos nesse estudo foram provenientes do solo da Serra das Almas, Crateús-CE, e a pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Patologia Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria Tropical. Comparou-se o emprego de pré-tratamento do solo com solo não tratado para obtenção de isolados de actinobactérias em cultura. Amostras de solo tratadas a 60 °C e amostras à temperatura ambiente, assim como amostras tratadas e não tratadas com fenol em 5 concentrações foram comparadas quanto ao número e a diversidade de isolados de actinobactérias crescidos em diferentes meios de cultura. A partir dos resultados obtidos nesses experimentos, foi investigada a influência da alternância luminosa e do escuro total na obtenção das colônias de actinobactérias em cultura. Com base nas informações obtidas nesses ensaios preliminares, realizou-se o teste de antagonismo de isolados de actinobactérias contra *Colletotrichum musae*, empregando-se o método de culturas pareadas. O pré-tratamento do solo com temperatura proporcionou a obtenção de maior número e diversidade de isolados de actinobactérias, enquanto o emprego do fenol reduziu a obtenção de isolados dos microrganismos; Whaksman foi o melhor meio para isolamento de actinobactérias, proporcionando maior número e diversidade de actinobactérias. Também, verificou-se que o fotoperíodo incrementou o desenvolvimento das colônias de actinobactérias. Os isolados de actinobactéria que melhor inibiram o crescimento do patógenos-alvo foram EMB\_ACT\_032, EMB\_ACT\_010 e EMB\_ACT\_025.

**Palavra-chaves:** Bactéria. Temperatura. Fenol. Fotoperíodo. Antagonismo.

## ABSTRACT

Actinobacteria are microorganisms surviving under many different environment conditions for long periods of time and by their physical and biochemical constitution have been studied as a source of bioactive metabolites in biotechnology searches with different goals. Isolates of actinobacteria used in this study were sampled from caatinga soil at the location known as Serra das Almas, Crateús county, state of Ceará, Brazil. The work was done at the Laboratório de Patologia Pós-Colheita of Embrapa Agroindústria Tropical. The use of pre-treatment of soil with untreated soil to obtain isolates of actinobacteria in culture was compared. Soil samples treated at 60 °C and samples at room temperature, as well as phenol treated at 5 concentrations and not treated samples were compared for the number and diversity of actinobacteria isolates grown in different culture media. Based on preliminary results, the influence of light alternation and total darkness on the culture of actinobacteria colonies was investigated. The antagonism test against *Colletotrichum musae* of actinobacteria isolates was carried out using the paired cultures method followed the results of these preliminary tests. Pretreatment of soil with temperature provided the highest number and diversity of actinobacteria isolates, while the use of phenol reduced the production of isolates of the microorganisms. Whaksman medium was the best for actinobacterium isolating, providing greater numbers and actinobacterium diversity than the other media. Also, the photoperiod increased colony development of actinobacteria. Isolates EMB\_ACT\_032, EMB\_ACT\_010 and EMB\_ACT\_025 were attained the best growth inhibition of the target pathogens.

**Keywords:** Bacteria. Temperature. Phenol. Photoperiod. Antagonism.

## INTRODUÇÃO

O Filo Actinobactéria, constante do Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2012), inclui 5 classes, 19 ordens, 50 famílias e 221 gêneros. Actinobactérias formam um grupo de bactérias Gram positivas, caracterizadas pelo elevado conteúdo de bases nitrogenadas (G+C), acima de 50% e pela morfologia diversa, na qual se baseia parte de sua classificação, podendo, portanto, serem esféricas, bacilares ou filamentosas, neste caso, com micélio exíguo e de coloração variada (GOODFELLOW, 2015).

A caatinga é um importante bioma do Brasil que abrangem a maior parte dos estados da região Nordeste, perfazendo 10% do território nacional. Estudos dos microrganismos do solo da caatinga é importante, pois é de conhecimento geral que solos pouco férteis e de ambientes extremos podem ser excelentes para obtenção de microrganismos antagônicos (ALMEIDA et al., 2012).

Para isolamento seletivo de actinobactérias, existe uma série de procedimentos descritos para diferentes ambientes naturais (ROSENBERG et al., 2014). A maioria deles referem-se a isolamentos por meio de plaqueamento de diluições seriadas e a utilização de meios seletivos, nutritivamente pobres (TIWARI & GUPTA, 2013). Trabalhos realizados por Yu et al. (2015) demonstrou que o meio de cultura mais eficaz no isolando actinobactérias de solo do litoral Yalu Jiang foi o ágar-gause (33,72%) e ágar-amido-caseína (22,67%). A variação na obtenção de variedade e número de colônias de actinobactérias do solo, provavelmente, reflete o efeito de composição do meio (SHARMA & DAVID 2012).

Vários métodos de pré-tratamento têm sido propostos para evitar esta dificuldade, tais como o tratamento da suspensão de solo com fenol a 0,3 a 1,5%, como aquele sugerido por Istianto et al. (2012). Niyomvong et al. (2012), relataram que os regimes de pré-aquecimento, em geral, estimulam o isolamento de actinobactérias, eliminando o domínio de microrganismos indesejados.

É amplamente conhecido que a luz é um importante fator ambiente no crescimento de microrganismos, sendo que a grande maioria deles necessitam de luminosidade de forma direta ou alternada para crescer. Bodelier et al. (1997) observou o crescimento da bactéria *Pseudomonas chlororaphis* submetida a períodos de 4, 5 e 8 horas de luz comparados com o escuro total verificando a necessidade de luz para o crescimento dessa bactéria e que, no escuro, o seu crescimento era suprimido.

Um dos principais desafios da agricultura hodierna é substituir os defensivos agrícolas, principalmente fungicidas e inseticidas, por produtos alternativos não tóxicos à vida. Nesta direção, a tecnologia do controle biológico é uma opção já demonstrada como plenamente viável e exequível no combate das doenças no campo e na pós-colheita. Li *et al.* (2011) empregou filtrado de cultura de *Streptomyces globisporus* como agente supressor do crescimento dos fungos *Magnaporthe oryzae*, *Bipolaris maydis* verificando um efeito supressivo desse filtrado no crescimento de *M. oryzae* com consequente supressão da doença causada por esse fungo.

Neste trabalho, foram estudados métodos para a otimização do isolamento de actinobactérias obtidas de solo, tendo como fonte de substrato o solo do sopé da Serra das Almas, importante reserva da caatinga cearense. Estudou-se ainda o antagonismo dos isolados obtidos em relação ao fungo *Colletotrichum musae*, agente da antracnose da banana.

## MATERIAL E METODOS

Para obtenção das actinobactérias do solo estudadas neste trabalho, foi realizada uma coleta de várias amostras do solo da parte baixa da ‘Serra das Almas’, situada em Crateús no estado do Ceará. A amostragem foi realizada em 8 pontos à uma profundidade de 20 cm, sendo todas misturadas em um recipiente plástico de onde se colheu uma subamostra de 200 gramas (amostra composta-AC) para o estudo a ser realizado, esta então foi acondicionada em saco plástico e armazenada em uma caixa térmica com gelo até a chegada ao laboratório de fitopatologia da Embrapa Agroindústria Tropical onde foram realizados os testes.

O preparo da amostra composta iniciou com o peneiramento do solo em peneira de 400 mesh para separação de resíduos vários, seguida de secagem ao ar à sombra por um período de 24 horas. Após a secagem, a AC foi recolocada em saco plástico novo e acondicionada em geladeira à temperatura de 4°C para utilização posterior. Posteriormente, a AC de solo foi toda tratada com carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) a 1% e incubada por um período de 10 dias em câmara úmida a temperatura ambiente e 70% de umidade. Após esse período as amostras foram secas ao ar ambiente por 24 horas para a realização dos testes.

## **Efeito do tratamento térmico do substrato e de meios de cultura na obtenção de actinobactérias do solo**

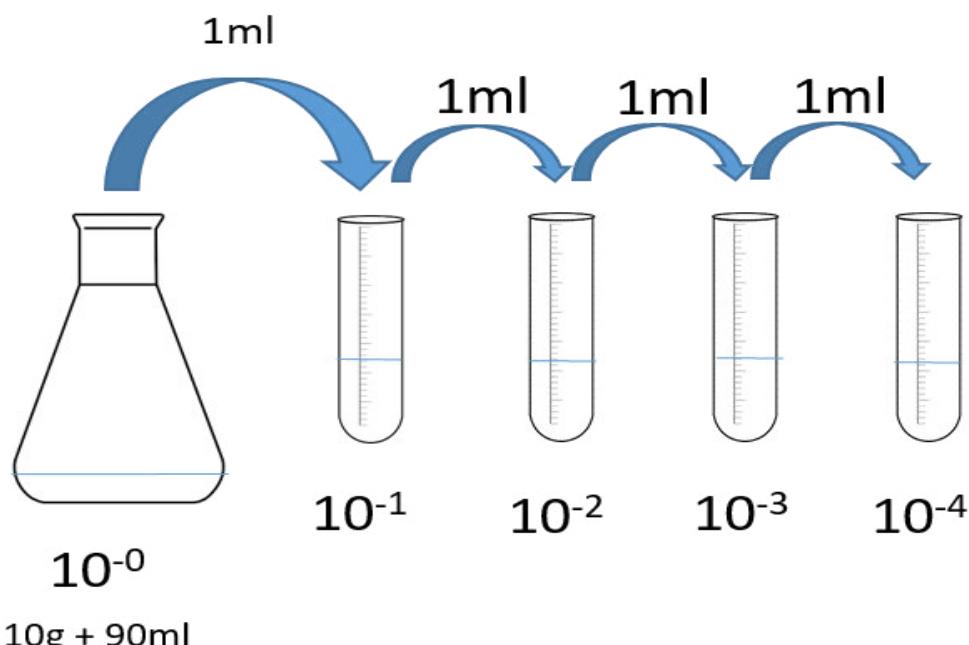
Porções da AC de solo em suspensão foram submetidas à temperatura de 60 °C em comparação com amostras à temperatura ambiente, de modo a verificar quais dessas duas condições proporcionava a maior variedade e quantidade de colônias de actinobactérias em diferentes meios de cultura. Foram utilizados 10 g de solo seco ao qual foi acrescentado 90 mL de solução salina (0,85% NaCl), sendo a suspensão resultante agitada por 1 hora. Logo após, parte desta suspensão foi deixada em repouso em banho-maria a 60 °C por um período de 60 minutos e a outra metade foi deixada à temperatura ambiente do laboratório, cerca de 27 °C.

Após o período de repouso de ambas as suspensões, ambas foram diluídas em solução salina 0,85% NaCl (p/v) às proporções de  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  (Figura 1). Para obtenção das actinobactérias, gotas de 100 µL de cada uma das duas suspensões diluídas, tratada e não tratada com temperatura, foram adicionadas ao centro de placas com diferentes meios de cultura sólidos e espalhadas com alça de Drigalski.

Os cinco meios de culturas a serem testados quanto à seletividade para obtenção de actinobactérias do solo, todos preparados para 1 litro de água destilada e esterilizada e com pH ajustados para 7,2 foram: Meio de Waksman - 10g glucose, 5g de peptona, 1g de fosfato de potássio dihidratado, 0,5g de sulfato de magnésio e 15g de ágar bacteriológico (Wks); Meio ágar-amido-caseína 10g de amido solúvel, 0,3g de caseína, 2g de nitrato de potássio, 2g de cloreto de sódio, 2g de fosfato de potássio dibásico, 0,05g de sulfato de magnésio, 0,01g de sulfato ferroso, 0,02g de carbonato de cálcio e 18g de ágar bacteriológico (ACa); Meio ágar-extrato de levedura 0,25g de extrato de levedura, 0,5g de fosfato de potássio monohidratado e 20g de ágar bacteriológico (ALe); Meio batata-dextrose-ágar modificado - 39g de BDA DIFCO® mais 5g de peptona (BDAp); Meio específico para isolamento de actinomicetos da HIMEDIA® (HI).

O delineamento experimental empregado foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 5 x 2. O critério empregado na avaliação dos melhores meios para obtenção de colônias de actinobactérias do solo foi o número de unidades formadoras de colônias (ufc) do microrganismo, o que foi mensurado após dez dias de incubação das placas semeadas a 28°C (MALEK *et al.*, 2014). Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ).

Figura 1 - Diluição seriada



Fonte: Elaborado pelo autor.

#### **Teste de suspensões tratada e não tratada com fenol para obtenção de colônias de actinobactérias do solo.**

Três dos melhores meios de culturas testados no ensaio anterior foram selecionados para a realização dessa etapa da pesquisa: meio Wks, meio ACa e o meio HI. Os tratamentos foram constituídos de adições de diferentes concentrações de fenol às suspensões salinizadas de solo da Caatinga, as quais foram preparadas como no item anterior. Foram empregadas quatro concentrações de fenol, à saber, 0,31; 0,47; 0,63 e 0,94g L<sup>-1</sup> comparadas com uma testemunha, sem fenol que foram agitadas manualmente. Então, uma alíquota de 100  $\mu$ L de cada suspensão foi transferida para placas com os 3 meios selecionados e espalhada com alça de Drigalski. As placas contendo a suspensão foram incubadas em BOD a 28°C por um período de 10 dias. O desenho estatístico empregado foi inteiramente casualizado com 4 repetições.

A avaliação foi efetuada com base na contagem do número e na variedade (coloração e forma) de ufc de actinobactérias. Os dados obtidos foram submetidos à análise de regressão e os parâmetros alfas, betas e yo tiveram suas médias comparadas pelo teste de Tukey a ( $p \leq 0,05$ ).

### **Efeito da luminosidade sobre a obtenção de colônias de actinobactérias do solo.**

Com base nos resultados dos testes anteriores, preparou-se a suspensão do solo ao ambiente, sem o emprego de fenol ( $0,6315\text{ g L}^{-1}$ ), utilizando-se o meio de cultura Wks para se verificar a obtenção de colônias de actinobactérias em função da luz. As condições de luz testadas foram alternâncias luminosas (12/12h) e ausência de luz. As placas com os tratamentos foram incubadas por um período de 10 dias à  $28^{\circ}\text{C}$ .

O experimento foi distribuído ao acaso com quatro repetições e, como nos ensaios anteriores, o resultado foi obtido por meio da contagem de ufc de actinobactérias, sendo os dados analisados por análise de variância ANOVA e as medias foram comparadas pelo teste de Tukey a ( $p\leq 0,05$ ) pelo programa computacional ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2006).

### **Avaliação dos isolados de actinobactérias antagonistas ao fungo da antracnose da banana**

O teste de antagonismo foi realizado com base no método de culturas pareadas, medindo-se o espaço de inibição, em milímetros, entre os microrganismos desafiantes (actinobactérias) e o patógeno desafiado (*C. musae*). Em placa de Petri de 90 mm, contendo meio BDA, depositou-se um disco de meio Wks de 6 mm com o crescimento do desafiante à 20 mm da borda, sendo este incubado por um período de 72h. Após a incubação do desafiante, um disco de micélio de 6 mm de diâmetro do fungo desafiado foi depositado também a 20 mm da borda da placa e 50 mm da actinobactéria a ser testada (Figura 2).

As placas com os microrganismos desafiantes e o desafiado foi selada com parafilme e incubada à  $28^{\circ}\text{C}$  por um período de 8 dias (SUBRAMANI *et al.*, 2008). O desenho experimental empregado foi inteiramente casualizado, sendo cada tratamento, os isolados de actinobactéria, repetidos três vezes. Os dados obtidos foram analisados segundo a ANOVA e as médias foram comparadas pelo teste Scott Knott a ( $p<0,05$ ) empregando-se o programa computacional ASSISTAT (SILVA e AZEVEDO, 2006).

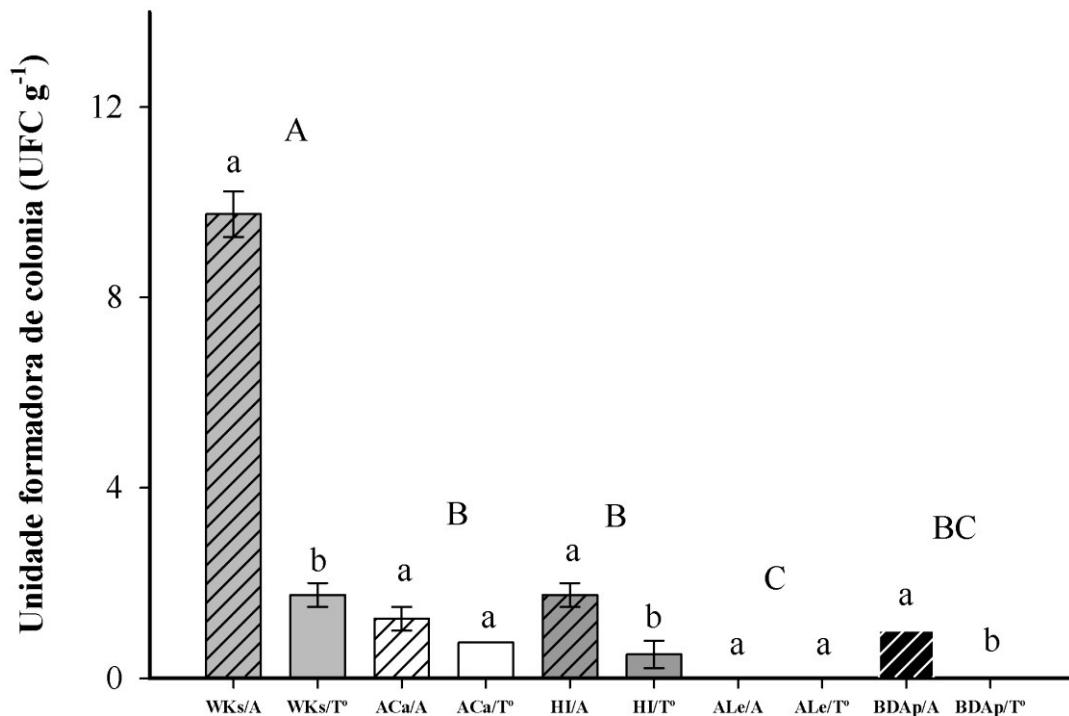
## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Efeito da temperatura de tratamento do substrato e de meios de cultura na obtenção de actinobactérias do solo.**

A obtenção de colônias de actinobactérias variou em função do meio de cultura empregado. O meio que proporcionou a maior média de germinação de actinobactérias foi o meio Wks diferenciando, significante, dos outros meios testados. A análise da variância mostrou ainda, por meio do teste F, que a temperatura de tratamento do substrato influenciou significativamente no número de colônias de actinobactérias obtidas nos meios de cultura testados, sendo que o tratamento da AC a 60 °C reduziu o número e a variedade de isolados actinobacterianos nesses meios. Quando o substrato (AC) foi tratado à temperatura de 60 °C, o crescimento de actinobactérias nos meios Wks, Hi e Aca foi reduzido e, nos meios ALe e BDAp foi nulo. (Figura 1).

Subramani e Aalbersberg (2013), tratando o substrato de solo com temperaturas amenas, tenham reduzindo, significativamente, o número de bactérias Gram-negativas no meio de isolamento. Neste trabalho, o crescimento de actinobactérias foi reduzido no substrato tratado com temperatura mais elevada. Portanto, é possível que o tratamento à temperatura de 60 °C visando reduzir competidores do solo, tenha afetado também o grupo alvo do isolamento.

Figura 1. Obtenção de colônias de actinobactérias do solo da Caatinga partir de substrato tratado e não tratados, semeados em diferentes meios de cultura.



Fonte: Elaborado pelo autor.

\*\*Médias seguidas de mesma letra maiúscula (entre meios de cultura), e médias seguidas de letra minúscula (temperatura dentre meios de cultura) não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

A= substrato à temperatura ambiente; T° = substrato tratado à 60°C.

Baskaran *et al.* (2011) também verificaram que o pré-aquecimento do solo influiu no número de colônias de actinobactéria, pois obtiveram apenas  $4 \times 10^6$  ufc g<sup>-1</sup> quando o solo foi tratado a 100°C, enquanto no solo tratado a 55°C obteve  $15 \times 10^6$  ufc g<sup>-1</sup>, ambos os tratamentos por um período de 60 minutos. Srivastava *et al.* (2012) verificaram que a temperatura de tratamento do substrato influenciou na obtenção de populações de actinobactérias.

Naikpatil e Rathod (2011) estudando o efeito do pré-aquecimento da suspensão de solo a 70 °C durante 15 min verificaram um aumento na obtenção de actinobactérias raras, como *Micromonospora*, *Actinoplanes*, *Actinomadura* e, também, que o número total de actinobactérias em geral aumentou em 50%, enquanto a formação de colônias de fungos e bactérias eram inibidas.

Este trabalho vem confirmar com os de Niyomvong *et al.* (2012), o qual relataram em seu estudo que os regimes de pré-aquecimento, em geral, estimulam o isolamento de actinobactérias, eliminando o domínio de microrganismos indesejados que poderiam inibir a colonização do meio devido ao crescimento lento desse microrganismo. Embora o estudo de Malek *et al.* (2014) tenha sido com o pré-tratamento térmico à seco, esses também confirmaram que o emprego de temperatura no tratamento do solo melhora o isolamento de Actinobactérias.

As médias de números de colônias de actinobactéria obtidas nos meios testados, a partir de substratos não tratados, foram submetidas ao teste de Tukey a ( $p<0,05$ ), o qual mostrou haver diferenças significativas entre esses meios, ratificando o resultado do teste F. O meio de cultura onde foi obtido o maior número de ufc foi o Wks ( $9,75 \times 10^4$  ufc g $^{-1}$ ) seguido dos meios HI ( $1,75 \times 10^4$  ufc g $^{-1}$ ), ACa ( $1,25 \times 10^4$  ufc g $^{-1}$ ) e do BDAp ( $1,00 \times 10^4$  ufc g $^{-1}$ ).

Em relação às colônias obtidas nos diferentes meios, após o tratamento do substrato com temperatura, verificou-se que o meio Wks proporcionou a maior média de número de colônias em relação aos meios ACa e HI que foram estatisticamente iguais entre si. No meio ALe não houve crescimento de colônia de actinobactérias em nenhum dos tratamentos do substrato.

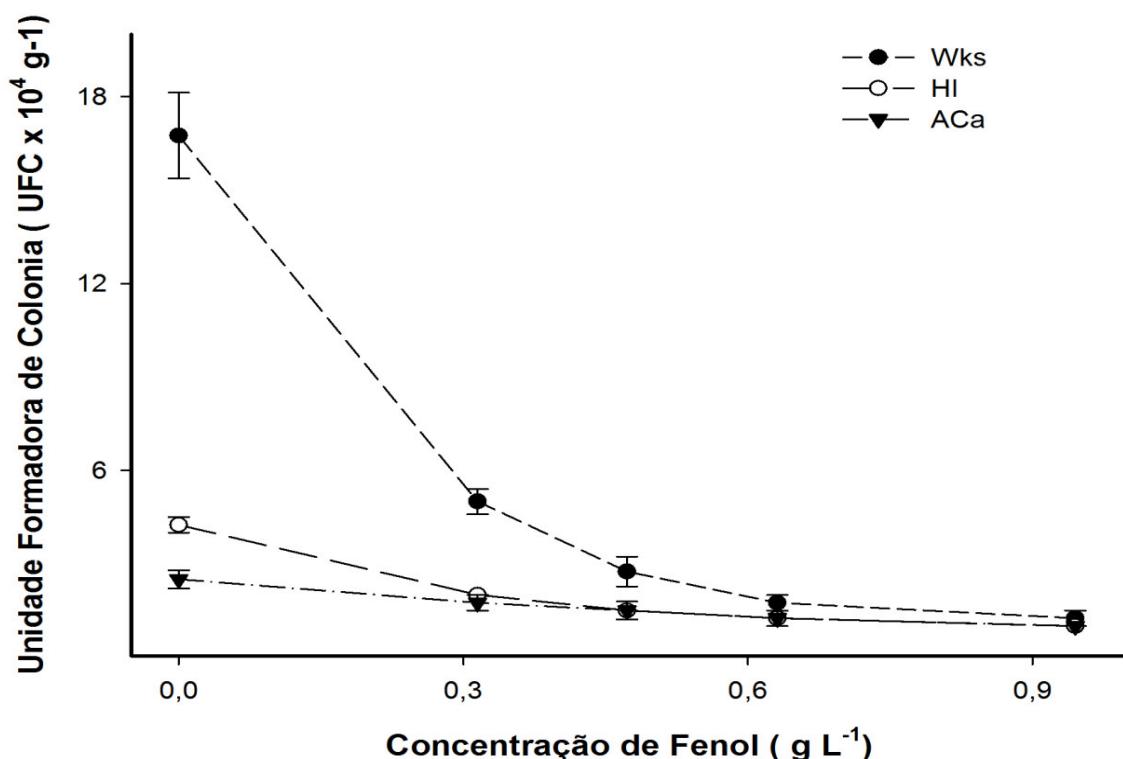
Segundo trabalhos de Pereira *et al.* (1996) o meio HI tem propionato de sódio na sua composição que pode reduzir o número de Actinobactérias. Esse meio também contém glicerol-asparagina que proporcionou o crescimento de 28% das estirpes de actinobactérias obtidas em um total de 1652 colônias em testes de meios seletivos (JIANG *et al.*, 2013). Zhang e Zhang (2011) testaram diferentes meios de cultura seletivos para obtenção de actinobactérias do solo tendo obtido uma rica variedade de gêneros no meio ZSSE (5g amido solúvel, 1g KNO<sub>3</sub>, 1000 mL extrato de solo, 10 g de ágar e pH 7.2), o qual continha amido em sua constituição.

### **Teste de suspensões tratada e não tratada com fenol para obtenção de actinobactérias do solo.**

Neste trabalho, embora já se soubesse resultado da concentração zero de fenol nos meios testados, esta foi empregada para mostrar o efeito dessa substância em cada meio de cultura, além de permitir a confecção de uma curva de regressão mais nítida. De maneira geral, a inclusão de fenol nos meios testados levou a uma redução na obtenção de actinobactérias do solo. No meio Wks o número de colônias obtidas reduziu à medida que se

aumentou a concentração do ácido fênico, tendo esse efeito negativo sido estatisticamente diferente do efeito nos dois outros meios testados. O efeito do fenol na redução da obtenção de colônias de actinobactérias nos meios HI e ACa foi menor que aquele no meio Wks na primeira concentração empregada, conforme pode ser observado na Figura 2, para a qual se utilizou o erro padrão da média.

Figura 2 - Análise de regressão da resposta das colônias de actinobactérias em função da concentração de fenol sobre diferentes meios Wks= meio Waksman; HI= meio Himedia; Aca= meio Agar Amino Caseína.



Fonte: Elaborado pelo autor.

A equação quadrática na análise de regressão adequou próximo ao modelo biológico variando de 99-100% o coeficiente de determinação, onde os parâmetros  $Y_0$ , alfa e beta foram significativos pelo teste de tukey ( $p < 0,05$ ), o meio que teve maior média diferenciando estatisticamente foi o Wks sem tratamento com fenol onde o número de colônias teve maior diversidade e sem contaminantes (Tabela 1).

Tabela 1 - Análise de regressão Função ( $ax^2+bx+Y_0$ ) dos dados do efeito das concentrações de fenol em função dos diferentes meios Wks=meio Whaksman; HI= meio Himedia e Aca= meio Agar Amino Caseína.

Meios	$Y_0$	Alfa= $a$	Beta= $b$	F	P	$R^2$
Wks	16,41a	41,68a	27,23a	99,49*	0,0100	0,99
HI	4,19b	2,68b	2,04b	136,50*	0,0073	0,99
Aca	2,52b	8,09b	5,03b	2225,00*	0,0004	0,99
**Media	7,71	17,48	11,43			
CV%	25,38	32,51	30,17			

Elaborado pelo autor.

\*\*Medias dos parâmetros da regressão seguidas de mesma letra não difere estatisticamente pelo teste de Tukey a ( $p<0,05$ ).

Alguns autores demonstraram que o fenol é um biocida e tóxico para bactérias, fungos e estreptomicetos, assim que o tratamento com 1,5% de fenol reduz o número desses microrganismos através da remoção de espécies sensíveis (HAYAKAWA *et al.*, 2004, SEONG *et al.*, 2001, RUTTANASUTJA; PATHOM-AREE, 2015).

Khamna *et al.* (2009) empregou fenol no pré-tratamento de amostras para a obtenção seletiva de grupos de actinobactérias e, embora o tratamento com o fenol na suspensão do solo tenha reduzido o número de bactérias e fungos, as actinobactérias foram menos afetadas que esses outros agrupamentos de microrganismos, tendo 65% dos microrganismos obtidos sido de actinobactérias raras. Semelhantemente, Qiu *et al.* (2008), também empregando o pré-tratamento de fenol nas amostras de solo, reduziu o número de bactérias e estreptomicetos obtidos, mantendo as actinobactérias raras. Hayakawa *et al.* (2004) fizeram tentativas de suprimir os contaminantes bacterianos utilizando fenol e ácido húmico a 30°C por um período de 30 minutos em suspensão de solos.

### **Influência do regime de luz na obtenção de actinobactérias do solo.**

A maioria das pesquisas de efeito de luz no crescimento de microrganismos refere-se à bactérias e fungos, enquanto actinobactérias são comumente cultivadas em alternância luminosa. Contudo, Waksman (1958) afirmou que actinobactérias não necessitam

de luz em suas atividades metabólicas. Neste trabalho, verificou-se que o crescimento de actinobactérias obtidas do solo cultivadas em meio Wks foi significativamente maior sob o regime de alternância luminosa que no escuro. Placas com meio Wks semeadas com solo de Caatinga e incubadas sob regime de alternância luminosa proporcionaram um crescimento duas vezes maior de colônias de actinobactérias ( $3,06 \times 10^4$  ufc g<sup>-1</sup>) que aquelas tratadas nas mesmas condições, mas incubadas no escuro (Tabela 2).

Tabela 2 - Análise da variância do efeito do regime de luminosidade versus tratamentos do substrato obtido de solo da Caatinga na obtenção de colônias de actinobactérias.

<b>*Tratamento</b>	nt	tT°	tF	t(T°+F)	<b>Media**</b>
					Luz alternada
Luz alternada	7,00Aa	1,75 Ba	2,25 Ba	1,25 Ba	3,06
Escuro	4,00 Ab	1,00 Ba	1,25 Ba	1,25 Ba	1,87
Médias	5,50	1,37	1,75	1,25	
CV%	32,8				

Fonte: Elaborado pelo autor.

\*Tratamentos: não tratado (nt), tratado com temperatura (tT°), tratado com fenol (tF), tratado com temperatura e fenol (t [T°+F]).

\*\*Médias seguidas de mesma letra maiúscula (períodos de luz), e médias seguidas de letra minúscula (pré-tratamento) não diferem estatisticamente entre si ( $p<0,05$ ).

De modo geral, o substrato de solo da Caatinga sem quaisquer tratamentos (nt) proporcionou o crescimento de colônias de actinobactérias em número, significativamente, maior que os substratos submetidos a pré-tratamentos com temperatura, com fenol e com temperatura associada a fenol (Tabela 2), embora alguns pesquisadores empregando esses métodos de pré-tratamento tenham obtido sucesso na obtenção de colônias do referido microrganismo (RUTTANASUTJA; PATHOM-AREE, 2015, MALEK *et al.*, 2014).

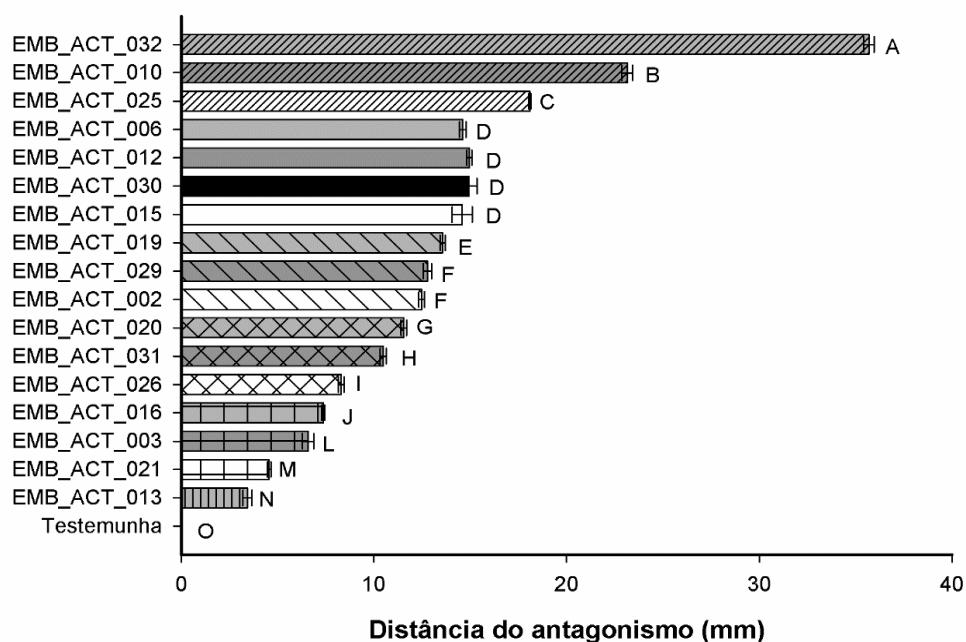
### Avaliação de isolados de actinobactérias antagonistas ao fungo da antracnose da banana

No teste de antagonismo, que foi realizado para selecionar as actinobactérias com maior potencial de produção de metabólitos antagônicos ao fungo *C. musae*, as actinobactérias que provocaram maior distância de inibição desafiante-desafiado foi o isolado EMB\_ACT\_032, estatisticamente superior aos outros pelo teste de Skott knott a 5% de

probabilidade com a distância de antagonismo de 35,68 mm. Em seguida, por ordem de superioridade antagônica, embora estatisticamente diferentes, vieram os isolados EMB\_ACT\_010 com 23,15 mm e o EMB\_ACT\_025 com 18,09 mm. Os outros isolados testados neste trabalho induziram inibição bem inferior ao EMB\_ACT\_032, abaixo de 50% deste (Figura 4).

Sawan *et al.* (2012) demonstram que isolados de actinobactérias do solo do parque Suthep-Pui National Park tiveram efeitos antagonistas diferencial em relação à *Colletotrichum gloeosporioides*. Muitos trabalhos têm sido relatados sobre o efeito das actinobactérias com propriedades antagonistas a fungos como *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *Melonis*, *Phytophthora cinnamomi*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Pythium debaryanum*, *Thanatephorus cucumeris*, *Mucor* sp. e *Penicillium* sp. (JAYASINGHE; PARKINSON, 2008, CUESTA *et al.*, 2009, CUESTA *et al.*, 2012).

Figura 4 - Teste de antagonismo dos isolados de actinobactérias obtidos de solo da Caatinga ao fungo da antracnose da banana.



Fonte: Elaborado pelo autor.

\*\*Medias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott Knott a ( $p<0,05$ ).

Do total de 110 isolados de actinomicetos do solo, Patil (2010) verificou que 9 apresentaram agressivo antagonismo contra *Rhizoctonia solani*, exibido em cultura dupla,

bem como na técnica de difusão em placa selada. A inibição foi de 50% sob a difusão (*Streptomyces toxytricini* vh22) e 52,6% em confronto direto (Actinomycetales vh41).

Neste trabalho, verificou-se que os isolados de actinobactéria obtidas do solo da ‘Serra das Almas’ produziram compostos inibidores do crescimento de *C. musae*, semelhante aos resultados obtidos por diversos pesquisadores em relação a outros fungos (COOMBS *et al.*, 2004; CAO *et al.*, 2005; KAVITHA *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2010; LI *et al.*, 2011; ARA *et al.*, 2012).

## CONCLUSÕES

- O meio Waksman foi o melhor para a obtenção de colônias de actinobactérias inespecíficas do solo.
- O pré-tratamento do solo com temperatura ou com fenol interferiu negativamente na obtenção de actinobactérias do solo em todos os meios testados.
- A incubação sob regime de alternância luminosa proporcionou obtenção de maior número de colônias de actinobactérias que o escuro.
- O isolado de actinobactéria que promoveu maior inibição do crescimento de *Colletotrichum musae* foi EMB\_ACT\_032.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, U. P.; ARAUJO, E. D.; EL-DEIR, A. C. A.; DE LIMA, A. L. A.; SOUTO, A.; BEZERRA, B. M.; FERRAZ, E. M. N.; FREIRE, E. M. X.; SAMPAIO, E. V. D. B.; LAS-CASAS, F. M. G.; DE MOURA, G. J. B.; PEREIRA, G. A.; DE MELO, J. G.; RAMOS, M. A.; RODAL, M. J. N.; SCHIEL, N.; DE LYRA-NEVES, R. M.; ALVES, R. R. N.; DE AZEVEDO, S. M.; TELINO, W. R.; SEVERI, W. Caatinga Revisited: Ecology and Conservation of an Important Seasonal Dry Forest. **Scientific World Journal**, [S.I], v.2012, 18p., May 2012.

BODELIER, P. L. E. W., A.T G.; BLOM, C.W.P.M. AND LAANBROEK, H.J. . Effects of photoperiod on growth of and denitrification by *Pseudomonas chlororaphis* in the root zone of *Glyceria maxima*, studied in a gnotobiotic microcosm. **Plant and Soil**, [S.I], v. 190, p. 91-103, 1997.

ALMEIDA, C. D. C. B. R.; CABRAL, D. L. D.; DE ALMEIDA, C. C. B. R.; DE AMORIM, E. L. C.; DE ARAUJO, J. M.; DE ALBUQUERQUE, U. P. Comparative study of the antimicrobial activity of native and exotic plants from the Caatinga and Atlantic Forest selected through an ethnobotanical survey. **Pharmaceutical Biology**, [S.I], v. 50, n. 2, p. 201-207, Feb 2012.

ARA, I.; RIZWANA, H.; AL-OTHMAN, M. R.; BAKIR, M. A. Studies of actinomycetes for biological control of *Colletotrichum musae* pathogen during post harvest anthracnose of banana. **African Journal of Microbiology Research**, [S.I], v. 7, n. 6, p. 3879-3886, May 2012.

BASKARAN, R.; VIJAYAKUMAR, R.; MOHAN, P. M. Enrichment method for the isolation of bioactive actinomycetes from mangrove sediments of Andaman Islands, India. **Malaysian Journal of Microbiology**, [S.I], v. 7, n. 1, p. 32, 2011.

CAO, L.; QIU, Z.; YOU, J.; TAN, H.; ZHOU, S. Isolation and characterization of endophytic streptomyces antagonists of fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. **FEMS Microbiology Letters**, [S.I], v. 247, n. 2, p. 147-152, Jun 2005.

COOMBS, J. T.; MICHELSEN, P. P.; FRANCO, C. M. M. Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* in wheat. **Biological Control**, [S.I], v. 29, n. 3, p. 359-366, Mar 2004.

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**, [S.I], v. 95, Supplement, p. 280-284, Mar 2012.

CUESTA, G.; MORALES, L.; DE LA FUENTE, R. G.; BOTELLA, S.; FORNES, F.; ABAD, M. Identification of actinomycetes with antifungal activity isolated from soil amended with composts. **Current Research Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, p. 55-58, 2009.

FLARDH, K.; BUTTNER, M. J. Streptomyces morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. **Nature Review Microbiological**, [S.I], v. 7, n. 1, p. 36-49, Jan 2009.

GOLINKA, P.; WANG, D.; GOODFELLOW, M. *Nocardia aciditolerans* sp. nov., isolated from a spruce forest soil. **Antonie Van Leeuwenhoek**, [S.I], v. 103, n. 5, p. 1079-1088, May 2013.

GOODFELLOW, M.; KÄMPFER, P.; BUSSE, H.-J.; TRUJILLO, M. E.; SUZUKI, K.-I.; LUDWIG, W.; B., W. W. **Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology Second Edition The Actinobacteria**. New York Dordrecht Heidelberg London: 2012. p.2015 ISBN 978-0-387-95043-3.

GREGERSEN, T. Rapid Method for Distinction of Gram-Negative from Gram-Positive Bacteria. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 5, n. 2, p. 123-127, 1978.

GRISHKO, V. N.; SYSHCHIKOVA, O. V.; ZENOVA, G. M.; KOZHEVIN, P. A.; DUBROVA, M. S.; LUBSANNOVA, D. A.; CHERNOV, I. Y. Mycelial actinobacteria in salt-affected soils of arid territories of Ukraine and Russia. **Eurasian Soil Science**, [S.I], v. 48, n. 1, p. 72-76, Jan 2015.

HAYAKAWA, M.; OTOGURO, M.; TAKEUCHI, T.; YAMAZAKI, T.; IIMURA, Y. Application of a method incorporating differential centrifugation for selective isolation of

motile actinomycetes in soil and plant litter. **Antonie Van Leeuwenhoek**, [S.I], v. 78, n. 2, p. 171-185, Aug 2000.

HAYAKAWA, M.; YOSHIDA, Y.; IIMURA, Y. Selective isolation of bioactive soil actinomycetes belonging to the Streptomyces violaceusniger phenotypic cluster. **Journal of Applied Microbiology**, [S.I], v. 96, n. 5, p. 973-981, 2004.

HUTALLE-SCHMELZER, K. M. L.; ZWIRNMANN, E.; KRUGER, A.; GROSSART, H. P. Enrichment and cultivation of pelagic bacteria from a humic lake using phenol and humic matter additions. **Fems Microbiology Ecology**, [S.I], v. 72, n. 1, p. 58-73, Apr 2010.

ISTIANTO, Y.; SETYO ADJI KOESOEMOWIDODO, R.; WATANABE, Y.; PRANAMUDA, H.; MARWOTO, B. Application of Phenol Pretreatment for the Isolation of Rare Actinomycetes from Indonesian Soil. **Microbiology Indonesia**, [S.I], v. 6, n. 1, p. 42-47, 2012.

JAYASINGHE, B. A. T. D.; PARKINSON, D. Actinomycetes as antagonists of litter decomposer fungi. **Applied Soil Ecology**, [S.I], v. 38, n. 2, p. 109-118, Fev 2008.  
JIANG, Y.; CHEN, X.; CAO, Y.; REN, Z. Diversity of Cultivable Actinomycetes in Tropical Rainy Forest of Xishuangbanna, China. **Open Journal of Soil Science**, [S.I], v. 03, n. 01, p. 9-14, 2013.

KAVITHA, A.; PRABHAKAR, P.; NARASIMHULU, M.; VIJAYALAKSHMI, M.; VENKATESWARLU, Y.; RAO, K. V.; RAJU, V. B. Isolation, characterization and biological evaluation of bioactive metabolites from Nocardia levis MK-VL 113. **Microbiolical Research**, [S.I], v. 165, n. 3, p. 199-210, Mar 31 2010.

KHAMNA, S.; YOKOTA, A.; LUMYONG, S. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: Diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 25, n. 4, p. 649-655, 2009.

KURAPOVA, A. I.; ZENOVA, G. M.; SUDNITSYN, II; KIZILOVA, A. K.; MANUCHAROVA, N. A.; NOROVSUREN, Z.; ZVIAGINTSEV, D. G. Thermotolerant and thermophilic soil Actinomycetes from desert steppes of Mongolia. **Mikrobiologija**, [S.I], v. 81, n. 1, p. 105-116, Jan-Feb 2012.

LI, Q.; JIANG, Y.; NING, P.; ZHENG, L.; HUANG, J.; LI, G.; JIANG, D.; HSIANG, T. Suppression of Magnaporthe oryzae by culture filtrates of Streptomyces globisporus JK-1. **Biological Control**, [S.I], v. 58, n. 2, p. 139-148, 2011.

LI, Q.; NING, P.; ZHENG, L.; HUANG, J.; LI, G.; HSIANG, T. Fumigant activity of volatiles of Streptomyces globisporus JK-1 against Penicillium italicum on Citrus microcarpa. **Postharvest Biology and Technology**, [S.I], v. 58, n. 2, p. 157-165, Nov 2010.

MALEK, N. A.; CHOWDHURY, A. J. K.; ZAINUDDIN, Z. A. A., Z. A. Z. . Selective Isolation of Actinomycetes from Mangrove Forest of Pahang, Malaysia. **International Conference on Agriculture, Biology and Environmental Sciences**, [S.I], v.6, n.1, p. 24-31, 2014.

NAIKPATIL, S. V.; RATHOD, J. L. Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar. **Journal of Ecobiotechnology**, [S.I], v.3, p.48-53, Nov 2011.

NIYOMVONG, N.; PATHOM-AREE, W.; THAMCHAIPENET, A.; DUANGMAL, K. Actinomycetes from Tropical Limestone Caves. **Chiang Mai Journal of Science**, [S.I], v. 39, n. 3, p. 373-388, Jul 2012.

OKORO, C. K.; BROWN, R.; JONES, A. L.; ANDREWS, B. A.; ASENJO, J. A.; GOODFELLOW, M.; BULL, A. T. Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. **Antonie Van Leeuwenhoek**, [S.I], v. 95, n. 2, p. 121-133, Feb 2009.

PATHOM-AREE, W.; STACH, J. E. M.; WARD, A. C.; HORIKOSHI, K.; BULL, A. T.; GOODFELLOW, M. Diversity of actinomycetes isolated from Challenger Deep sediment (10.898 m) from the Mariana Trench. **Extremophiles**, [S.I], v. 10, n. 3, p. 181-189, Jun 2006.

PATIL, H. J.; SRIVASTAVA, A. K.; KUMAR, S.; CHAUDHARI, B. L.; ARORA, D. K. Selective isolation, evaluation and characterization of antagonistic actinomycetes against Rhizoctonia solani. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, [S.I], v. 26, n. 12, p. 2163-2170, Dec 2010.

PATIL, H. J.; SRIVASTAVA, A. K.; SINGH, D. P.; CHAUDHARI, B. L.; ARORA, D. K. Actinomycetes mediated biochemical responses in tomato (*Solanum lycopersicum*) enhances bioprotection against Rhizoctonia solani. **Crop Protection**, [S.I], v. 30, n. 10, p. 1269-1273, Out 2011.

PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; DROZDOWICZ, A. Quantification of the Whole Bacteria Population, Antibiotic Resistant Bacteria and Soil Actinomycetes. **EMBRAPA-CNPB**. Seropédica, RJ, Brazil. 1996. 21p.

PRIYADHARSINI, P.; DHANASEKARAN, D. Diversity of soil Allelopathic Actinobacteria in Tiruchirappalli district, Tamilnadu, India. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, [S.I], v. 14, n. 1, p. 54-60, Jan 2015.

QIN, S.; LI, J.; CHEN, H. H.; ZHAO, G. Z.; ZHU, W. Y.; JIANG, C. L.; XU, L. H.; LI, W. J. Isolation, diversity, and antimicrobial activity of rare actinobacteria from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna, China. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.I], v. 75, n. 19, p. 6176-6186, Oct 2009.

QIU, D.; RUAN, J.; HUANG, Y. Selective isolation and rapid identification of members of the genus Micromonospora. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.I], v. 74, n. 17, p. 5593-5597, Sep 2008.

ROSENBERG, E.; DELONG, E. F.; LOR, S.; STACKEBRANDT, E.; THOMPSON, F. **The Prokaryotes Actinobacteria Fourth Edition**. Heidelberg New York Dordrecht London: Springer, 2014. 1065p., ISBN 978-3-642-30137-7.

RUTTANASUTJA, P.; PATHOM-AREE, W. Selective Isolation of Cultivable Actinomycetes from Thai Coastal Marine Sediment. **Chiang Mai Journal of Science**, [S.I], v. 42, n. 1, p. 88-103, Jan 2015.

SEONG, C. N.; CHOI, J. H.; BAIK, K. S. An improved selective isolation of rare actinomycetes from forest soil. **Journal of Microbiology**, [S.I], v. 39, n. 1, p. 17-23, Mar 2001.

SHARMA, S. C. V.; DAVID, E. A comparative study on selected marine actinomycetes from Pulicat, Muttukadu, and Ennore estuaries. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, [S.I], v. 2, n. 3, p. 1827-1834, Dec 2012.

SHIROKIKH, I. G.; SHIROKIKH, A. A.; MERZAEVA, O. V.; TUMASOVA, M. I. Actinomycetes in the rhizosphere of red clover on a soddy-podzolic soil. **Eurasian Soil Science**, [S.I], v. 37, n. 7, p. 762-768, Jul 2004.

SILVA, F. DE A. S. E. & AZEVEDO, C. A. V. DE. **A New Version of the Assistat-Statistical Assistance Software**. In: **WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE**, 4, Orlando-FL-USA: Anais. Orlando: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2006. p.393-396.

SRIVASTAVA, R. B.; UPADHYAY, P. K.; SINHA, S. K. The Effect of In-vitro Temperature on Actinomycetes and their Antibiotic Activity. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, [S.I], v. 6, n. 1, p. 509-511, Mar 2012.

SUBRAMANI, R.; AALBERSBERG, W. Culturable rare Actinomycetes: diversity, isolation and marine natural product discovery. **Applied Microbiology Biotechnology**, [S.I], v. 97, n. 21, p. 9291-9321, Nov 2013.

SUBRAMANI, R.; MANI, J.; NARAYANASAMY, M. Diversity and antifungal activity of marine actinomycetes. **Journal of Biotechnology**, [S.I], v. 136, p. 532-532, Oct 2008.

SUWAN, N.; BOONYING, W.; NALUMPANG, S. Antifungal activity of soil actinomycetes to control chilli anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Agricultural Technology**, [S.I], v. 8, n. 8, p. 725-737, 2012.

TIWARI, K.; GUPTA, R. K. Diversity and isolation of rare actinomycetes: an overview. **Critical Reviews in Microbiology**, [S.I], v. 39, n. 3, p. 256-294, Aug 2013.

VASCONCELLOS, R. L. F.; SILVA, M. C. P.; RIBEIRO, C. M.; CARDOSO, E. J. B. N. Isolation and screening for plant growth-promoting (PGP) actinobacteria from Araucaria angustifolia rhizosphere soil. **Scientia Agricola, Piracicaba SP**, v. 67, n. 6, p. 743-746, 2010.

WAKSMAN, S. A. Actinomycetes. **Science**, [S.I], v. 127, n. 3304, p. 1003-1004, 1958.

YAN, Y.; KURAMAE, E. E.; KLINKHAMER, P. G.; VAN VEEN, J. A. Revisiting the dilution procedure used to manipulate microbial biodiversity in terrestrial systems. **Applied Environment Microbiology**, [S.I], v. 81, n. 13, p. 4246-4252, Jul 2015.

YU, J.; ZHANG, L.; LIU, Q.; QI, X.; JI, Y.; KIM, B. S. Isolation and characterization of actinobacteria from Yalujiang coastal wetland, North China. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, HANAI, v. 5, n. 7, p. 555-560, Set 2015.

ZENOVA, G. M.; KOZHEVIN, P. A.; MANUCHAROVA, N. A.; LUBSANOVA, D. A.; DUBROVA, M. S. Ecophysiological Characteristics of actinomycetes of desert soils of Mongolia. **Izvestiia Akademii Nauk SSSR Seriya Biologicheskaya**, [S.I], v. 3, p. 246-253, May-Jun 2014.

ZHANG, H. Y.; XUE, Q. H.; SHEN, G. H.; WANG, D. S. Effects of actinomycetes agent on ginseng growth and rhizosphere soil microflora. **Ying Yong Sheng Tai Xue Bao**, [S.I], v. 24, n. 8, p. 2287-2293, Aug 2013.

ZHANG, J.; ZHANG, L. Improvement of an Isolation Medium for Actinomycetes. **Modern Applied Science**, [S.I], v. 5, n. 2, p. 124-127, 2011.

ZUCCHI, T. D.; GUIDOLIN, A. S.; CONSOLI, F. L. Isolation and characterization of actinobacteria ectosymbionts from *Acromyrmex subterraneus brunneus* (Hymenoptera, Formicidae). **Microbiology Research**, [S.I], v. 166, n. 1, p. 68-76, 2011

### **3 OBTENÇÃO DAS ACTINOBACTÉRIAS DA RIZOSFERA DE PLANTAS DA CAATINGA ANTAGONISTA A *Colletotrichum musae***

#### **RESUMO**

Actinobactérias são microrganismos que sobrevivem sob diferentes condições ambientais por longo tempo e que, por suas qualidades fisiobioquímicas, tem sido estudadas como fonte de metabólitos ativos em prospecções biotecnológicas com diversos fins. Os isolados de actinobactérias obtidos nesse estudo foram provenientes do solo da Serra das Almas, Crateús-CE, e a pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Patologia Pós-Colheita da Embrapa Agroindústria Tropical. Comparou-se o emprego de pré-tratamento do solo com solo não tratado para obtenção de isolados de actinobactérias em cultura. Amostras de solo tratadas a 60 °C e amostras à temperatura ambiente, assim como amostras tratadas e não tratadas com fenol em 5 concentrações foram comparadas quanto ao número e a diversidade de isolados de actinobactérias crescidos em diferentes meios de cultura. A partir dos resultados obtidos nesses experimentos, foi investigada a influência da alternância luminosa e do escuro total na obtenção das colônias de actinobactérias em cultura. Com base nas informações obtidas nesses ensaios preliminares, realizou-se o teste de antagonismo de isolados de actinobactérias contra *Colletotrichum musae*, empregando-se o método de culturas pareadas. O pré-tratamento do solo com temperatura proporcionou a obtenção de maior número e diversidade de isolados de actinobactérias, enquanto o emprego do fenol reduziu a obtenção de isolados dos microrganismos; Whaksman foi o melhor meio para isolamento de actinobactérias, proporcionando maior número e diversidade de actinobactérias. Também, verificou-se que o fotoperíodo incrementou o desenvolvimento das colônias de actinobactérias. Os isolados de actinobactéria que melhor inibiram o crescimento do patógenos-alvo foram EMB\_ACT\_032, EMB\_ACT\_010 e EMB\_ACT\_025.

**Palavras-Chaves:** Bacteria. Temperatura. Fenol. Fotoperíodo. Antagonismo

## ABSTRACT

Actinobacteria are microorganisms surviving under many different environment conditions for long periods of time and by their physical and biochemical constitution have been studied as a source of bioactive metabolites in biotechnology searches with different goals. Isolates of actinobacteria used in this study were sampled from caatinga soil at the location known as Serra das Almas, Crateús county, state of Ceará, Brazil. The work was done at the Laboratório de Patologia Pós-Colheita of Embrapa Agroindústria Tropical. The use of pre-treatment of soil with untreated soil to obtain isolates of actinobacteria in culture was compared. Soil samples treated at 60 °C and samples at room temperature, as well as phenol treated at 5 concentrations and not treated samples were compared for the number and diversity of actinobacteria isolates grown in different culture media. Based on preliminary results, the influence of light alternation and total darkness on the culture of actinobacteria colonies was investigated. The antagonism test against *Colletotrichum musae* of actinobacteria isolates was carried out using the paired cultures method followed the results of these preliminary tests. Pretreatment of soil with temperature provided the highest number and diversity of actinobacteria isolates, while the use of phenol reduced the production of isolates of the microorganisms. Whaksman medium was the best for actinobacterium isolating, providing greater numbers and actinobacterium diversity than the other media. Also, the photoperiod increased colony development of actinobacteria. Isolates EMB\_ACT\_032, EMB\_ACT\_010 and EMB\_ACT\_025 were attained the best growth inhibition of the target pathogens.

**Keywords:** Bacteria. Temperature. Phenol. Photoperiod. Antagonism.

## INTRODUÇÃO

O fungo de antracnose da banana é o fungo que ataca principalmente os frutos causando necrose e depreciando o fruto, para o controle dessa doença tem recomendado o uso de fungicidas que podem contaminar o ambiente e pode deixar os resíduos no fruto causando graves problemas de saúde (ZAKARIA *et al.*, 2009). O controle biológico vem como alternativa no controle dessa doença por não deixar resíduos e se utilizarem microrganismos e seus metabolitos de fácil degradação no ambiente (ARA *et al.*, 2012). Dentre esses microrganismos as actinobactérias que são grandes produtores de metabolitos (ESPINOSA *et al.*, 2012; PALANIYANDI *et al.*, 2013).

As actinobactérias são bactérias conhecidas por sua atividade na ciclagem de nutrientes, fixação de nitrogênio e na produção de substâncias promotoras de crescimento e de metabólitos secundários, os quais além de atuarem como antibiótico, podem ser empregados na proteção de plantas à fitopatógenos (SREEVIDYA *et al.*, 2016; VAN DER VOORT *et al.*, 2016). Esses microrganismos podem ser encontrados nos mais diferentes ambientes, tais como, solo de deserto (OKORO *et al.*, 2009), solo rizosférico (SILVA-LACERDA *et al.*, 2016), sedimento de rios (ELLAIAH *et al.*, 2002) e outros.

O bioma Caatinga abrange oito estados brasileiros, constituindo um patrimônio biológico que não existe em nenhum outro lugar do mundo (ALBUQUERQUE *et al.*, 2012), sendo conhecido pela grande diversidade de espécies que abriga, tanto de fauna quanto de flora, porém, a conservação dessa biodiversidade enfrenta ainda grandes desafios (MELLO *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2012).

A rizosfera é uma região do solo fortemente influenciada pelas plantas, onde se pode encontrar uma grande diversidade microbiana com intensa atividade biológica que resulta no enriquecimento desse microambiente com produtos e subprodutos do metabolismo dos microrganismos ali instalados, bem como das próprias plantas. Bactérias, fungos, actinobactérias e plantas vivem em constante processo de simbiose (TAKETANI *et al.*, 2015; SILVA-LACERDA *et al.*, 2016).

O estudo de microrganismos das plantas da rizosfera da Caatinga é extremamente importante, uma vez que esse nicho de condições extremas pode se tornar uma poderosa fonte de metabólitos para emprego em biotecnologia, haja vista que a busca por produtos eficazes contra bactérias resistentes a múltiplas drogas patogênicas para os seres humanos tem sido uma importante meta da indústria química. O desenvolvimento rápido e agressivo de espécies bacterianas resistentes a produtos antimicrobianos tem motivado os cientistas a desenvolver

novas biomoléculas, neste caso, as actinobactérias da rizosfera podem ser uma fonte promissora de novos antibióticos e, por isso, são de grande interesse para a indústria farmacêutica e de biotecnologia (HIGGINBOTHAM e MURPHY, 2010; CHO *et al.*, 2012).

Diante do exposto, o objetivo do presente estudo foi avaliar a atividade antagonista de actinobactérias isoladas da rizosfera de plantas da Caatinga.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta de amostras da rizosfera

A coleta do solo rizosférico da Caatinga para a prospecção de actinobactérias foi realizada em 8 regiões dos estados do Rio Grande do Norte, Ceará e Piauí realizada com base em 48 amostras retiradas da região rizosférica de plantas (Tabela 1), Foram retiradas três repetições por plantas, as quais foram misturadas perfazendo uma amostra final de 100 gramas que foram acondicionadas em saco plástico e colocadas em caixa de isopor com gelo até a chegada no laboratório da Embrapa Agroindústria Tropical, onde foi realizado o peneiramento para separação das raízes e grânulos maiores e, em seguida, a secagem, que foi realizada à sombra por 24 horas, sendo essas amostras novamente acondicionadas em sacos plásticos e armazenados em geladeira a temperatura de 4°C para posterior pré-tratamento.

Tabela 1 - Relação de plantas da Caatinga de cujas rizosferas foram obtidos isolados de actinobactérias.

Nº	Nome comum (Nome Científico)	Abreviatura	Local	LATI e LONG
1	Algodão de Seda ( <i>Calotropis Procera</i> )	ALGITA	Itatira1-CE	4°33'07,98"S e 39°38'24,48"O
2	Angico ( <i>Anadenanthera colubrina</i> )	ANGITA	Itatira1-CE	4°33'13,80"S e 39°37'48,68"O
4	Arueira ( <i>Myracrodruon urundeuva</i> )	ARUITA	Itatira1-CE	4°33'04,50"S e 39°37'51,16"O
3	Catanduva ( <i>Pityrocarpa moniliformis</i> )	CATASM	Serra do mel-CE	5°14'25,40"S e 37°01'23,88"O
5	Catanduva ( <i>Pityrocarpa moniliformis</i> )	CATAPA	Pacajus-CE	4°13'12,40"S e 38°28'07,57"O
6	Catingueira ( <i>Poincianella pyramidalis</i> )	CATITA	Itatira-CE	4°33'01,12"S e 39°37'53,46"O
7	Catingueira ( <i>Poincianella pyramidalis</i> )	CATITA	Itatira2-CE	4°33'04,44"S e 39°37'53,18"O
8	Catingueira ( <i>Poincianella pyramidalis</i> )	CATMU	Quixeramobim-CE	5°55'08,08"S e 41°52'40,07"O
9	Catingueira ( <i>Poincianella pyramidalis</i> )	CATPI	Piauí	6°55'07,04"S e 41°52'39,05"O
10	Coroa de Frade ( <i>Melocactus bahiensis</i> )	CORFAI-1	Aiuaba-CE	06°41'49,3"S e 40° 71'08,4" W
11	Coroa de Frade ( <i>Melocactus bahiensis</i> )	CORFAI-2	Aiuaba-CE	06°41'49"S e 40°17'08,30" W
12	Coroa de Frade ( <i>Melocactus bahiensis</i> )	CORFAI-3	Aiuaba-CE	06°41'23,5"S e 40°16'17,8"
13	Coroa de Frade ( <i>Melocactus bahiensis</i> )	CORFAI-4	Aiuaba-CE	06°36'0,02"S e

14	Coroa de Frade ( <i>Melocactus bahiensis</i> )	CORFAI-5	Aiuaba-CE	40°07'24"S 06°36'00,3"S e 40°0,7'25,02"W
15	Cumaru ( <i>Amburana cearensis</i> )	CUMITA	Itatira-CE	4°33'03,49"S e 39°37'51,95"O
16	Cumaru ( <i>Amburana cearensis</i> )	CUMPO	Potiretama-CE	5°39'02,42"S e 38°14'12,14"O
17	Espinheiro ( <i>Senegalia polyphylla</i> )	ESPACA	Pacajus-CE	4°13'12,14"S e 38°28'08,58"O
18	Facheiro ( <i>Pilosocereus pachycladus</i> )	FACITA2	Itatira2-CE	4°33'7,98"S e 39°38'24,48"O
19	Facheiro ( <i>Pilosocereus pachycladus</i> )	FACTI	Tibau-RN	4°50'0,18"S e 37°16'05,74"O
20	Feijão-bravo ( <i>Capparis flexuosa</i> )	FEBITA	Itatira-CE	4°33'04,44"S e 39°37'53,18"O
21	Freijó ( <i>Cordia trichotoma</i> )	FREITA	Itatira-CE	4°33'01,34"S e 39°37'48,94"O
22	Imburana ( <i>Commiphora leptophloeos</i> )	IMBUITA	Itatira-CE	4°33'02,86"S e 39°37'53,71"O
23	Juazeiro ( <i>Zizyphus Joazeiro</i> )	JUITA2	Itatira2-CE	4°33'03,98"S e 39°38'27,48"O
24	Jurema preta ( <i>Mimosa hostilis</i> )	JUPITA	Itatira-CE	4°33'13,84"S e 39°37'48,02"O
25	Mandacaru ( <i>Cereus jamacaru</i> )	MANAI-1	Aiuaba-CE	06°40'17,9"S e 40°10'56,5"W
26	Mandacaru ( <i>Cereus jamacaru</i> )	MANAI-1	Aiuaba-CE	06° 41' 46,5"S e 40°17'34,7"W
27	Mandacaru ( <i>Cereus jamacaru</i> )	MANAI-3	Aiuaba-CE	06°41'52,4"S e 40°16'59,6"W
28	Mandacaru ( <i>Cereus jamacaru</i> )	MANAI-4	Aiuaba-CE	06°39' 32,5"S e 40°07'29,7"W
29	Mandacaru ( <i>Cereus jamacaru</i> )	MANAI-5	Aiuaba-CE	06°36'04,75"S e 40°07'27,6"W
30	Mandacaru ( <i>Cereus jamacaru</i> )	MANITA	Itatira	4°33'12,71"S e 39°37'47,60"O
31	Manipuçá ( <i>Mouriri cearensis</i> )	MANIPITA	Itatira-CE	4°33'12,07"S e 39°37'46,48"O
32	Marmeiro ( <i>Croton blanchetianus</i> )	MARITA	Itatira-CE	4°33'10,15"S e 39°37'45,84"O
33	Marmeiro ( <i>Croton blanchetianus</i> )	MARSM	Serra do mel-RN	5°14'31,75"S e 37° 02'54,50"O
34	Marmeiro ( <i>Croton blanchetianus</i> )	MARTI	Tibau-RN	4°50'01,34"S e 37°16'02,35"O
35	Mororó ( <i>Bauhinia forficata</i> )	MORPA	Pacajus-CE	4°13'12,49"S e 38°28'06,17"O
36	Mororó ( <i>Bauhinia forficata</i> )	MORPI	Piauí	5°31'58,04"S e 38°04'08,05"O
37	Mufumbo ( <i>Combretum leprosum</i> )	MUFPI	Piauí	5°23'19,01"S e 39°22'03,02"O
38	Mufumbo ( <i>Combretum leprosum</i> )	MUFPO	Potiretama-CE	5°39'04,07"S e 38°14'21,09"O
39	Mufumbo ( <i>Combretum leprosum</i> )	MUFTI	Tibau-CE	4°49'59,44"S e 37°16'09,99"O
40	Oiticica ( <i>Licania rigida</i> )	OITITA	Itatira2-CE	4°33'07,98"S e 39°38'24,48"O
41	Palma ( <i>Opuntia ficus indica</i> )	PALAI	Aiuaba-CE	06°41'21,3"S e 40°11'51,8"W
42	Pereiro ( <i>Aspidosperma pyrifolium</i> )	PEROMU	Quixeramobim-CE	5°23'19,01"S e 39°22'42,04"O
43	Pereiro ( <i>Aspidosperma pyrifolium</i> )	PEROPO	Potiretama-CE	5°39'02,73"S e 38°14'14,90"O
44	Pinhão ou Bravo ( <i>Jatropha mollissima</i> )	PBPO	Potiretama-CE	5°39'02,57"S e 38°14'09,54"O
45	Quixabeira ( <i>Sideroxylon obtusifolium</i> )	QUIXITA	Itatira-CE	4°33'02,38"S e 39°37'52,50"O
46	Quixabeira ( <i>Sideroxylon obtusifolium</i> )	QUIXITA2	Itatira2-CE	4°33'07,98"S e 39°38'24,48"O

47	Sabiá ( <i>Mimosa caesalpiniaefolia</i> )	SABITA	Itatira-CE	4°33'02,89"S e 39°37'50,13"O
48	Velane ( <i>Croton heliotropiifolius</i> )	VELPI	Piauí	6°55'09,02"S e 41°52'40,02"O

Fonte: Elaborado pelo autor.

## Isolamento das actinobactérias

Para o isolamento das actinobactérias, foram pesadas 20 g amostras de solo rizosférico de cada uma das plantas para constituírem nas sub-amostras a serem trabalhadas. Logo após a pesagem, essas sub-amostras receberam um pré-tratamento, constituído da adição de carbonato de cálcio a 1% e, logo em seguida, foram incubadas em câmara úmida por 10 dias à umidade relativa de 80%. Em seguida as sub-amostras foram secas ao ar por um período de 24 horas. Após a secagem do solo rizosférico pré-tratado, realizou-se o procedimento para o isolamento de actinobactérias.

Pesou-se 10 g do solo seco que foram adicionadas a 90 ml de uma solução de NaCl (p/v) a 0,85% e misturado por meio de agitador mecânico por um período de 1 hora. Após a agitação da mistura, realizou-se uma diluição seriada da mistura base com a adição de uma alíquota de 1,0 ml desta mistura inicial (base) à 9,0 ml da mesma solução salina (NaCl a 0,85%), obtendo-se a primeira diluição ( $10^{-1}$ ), e assim por diante até a obtenção da diluição  $10^{-5}$ .

Então, a partir das diluições de  $10^{-4}$  e  $10^{-5}$  realizou-se o isolamento propriamente dito inserindo-se uma alíquota de 100  $\mu$ L de cada uma dessas diluições em placas de Petri com meio de cultura Waksman solidificado (10g de glucose 10; 5g de peptona; 1g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,5g de MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 15g de ágar; 1L de água destilada) espalhando-se a microgota sobre o meio com alça de Drigalski. Após o que as placas foram incubadas a 28°C por 10 dias, depois dos quais foi efetuada a contagem das UFC (Unidade Formadora de Colônias) no meio.

## Teste preliminar para obtenção de isolados antagonistas de actinobactérias rizosféricas à *Colletotrichum musae*

Na avaliação do antagonismo das actinobactérias obtidas da rizosfera de plantas da Caatinga sobre *Colletotrichum musae* empregou-se o isolado do fungo obtido da micoteca do Instituto Biológico de São Paulo – IB (MMBF226/12) como microrganismo alvo. O antagonismo foi estudado com base no teste de pareamento, medindo-se a distância de

inibição entre os isolados de Actinobactéria e o patógeno. Primeiramente, um disco de 6 mm de diâmetro de cada isolado desse microrganismo foi inserido a 20 mm da extremidade de uma placa de Petri de 90 mm contendo meio batata dextrose ágar (BDA), sendo incubado em estufa a 28°C por três dias. Após esse período, um disco (6mm) de meio de cultura com o isolado do microrganismo alvo, *Colletotrichum musae*, foi adicionado a uma distância de 50 mm de cada isolado de actinobactéria. A placa com os dois microrganismos foi então selada com parafilme e transferida para estufa a 28°C por um período 8 dias. Para cada isolado de actinobactéria foram feitas três repetições. Também foi preparada uma placa com apenas o patógeno alvo para comparação do crescimento (testemunha).

### **Extração dos metabólitos selecionados no teste de antagonismo**

As cepas selecionadas no teste anterior (antagonismo) foram cultivadas em caldo Czapek dox (sacarose 30 g; NaNO<sub>3</sub> 3g; K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1g; MgSO<sub>4</sub> 0,5 g; FeSO<sub>4</sub> 0,5 g; KCl 0,5 g; 1000 mL agua destilada) colocadas em Erlenmeyer de 20 L que foi submetido a agitação de 170 rpm em uma temperatura de 28 °C durante 20 dias (Figura 3). Após esse período, 20 mL desse o contendo a estirpe mais o metabólito foi filtrado a vácuo através de filtro de nitrocelulose de 0,22 µm. Logo em seguida, o filtrado foi separado por solvente orgânico, acetato de etila, em funil de separação, O extrato orgânico, obtidos após a filtração foi submetido a rotaevaporador e, logo em seguida, liofilizado, pesado e armazenado sob a forma sólida em refrigeração para utilização nos testes de antibiose cada conjunto *Colletotrichum*-metabólito foi avaliado com base na formação de halo de inibição ao redor do disco com o metabólito (Figura 4).

Figura 4 - Balão separador e rota evaporador para separação dos metabolitos



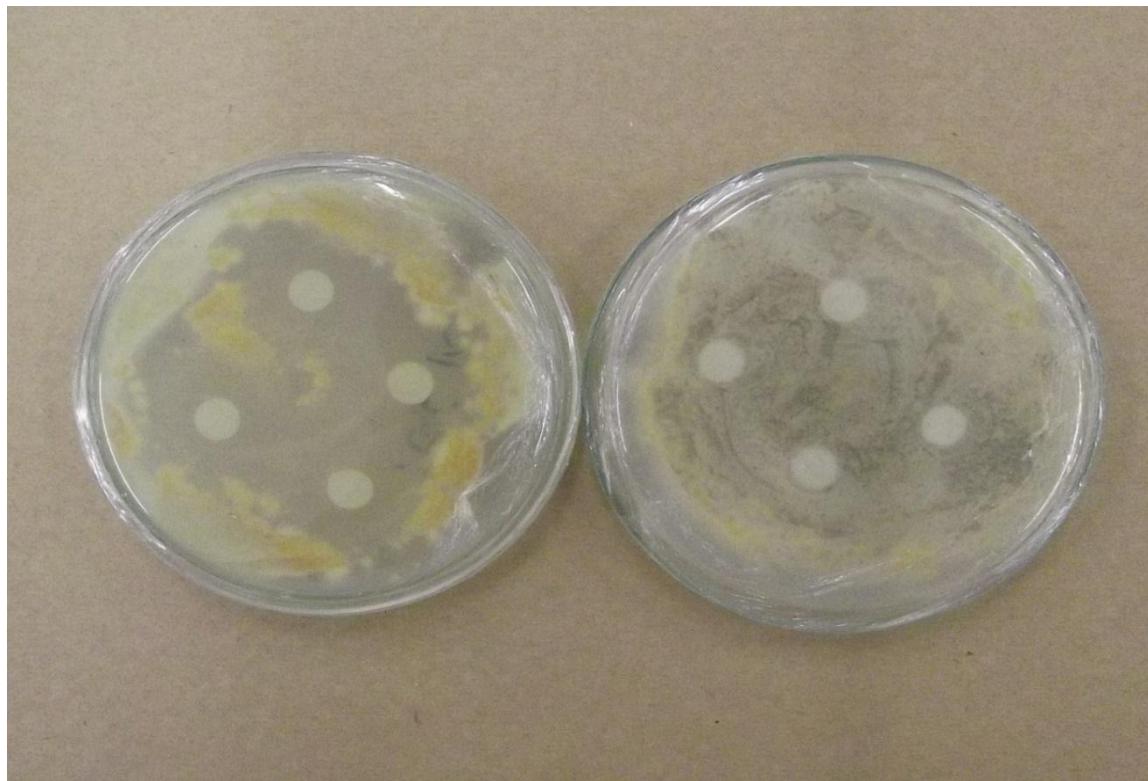
Fonte: Elaborado pelo autor.

### Teste de antibiose de metabólitos de actinobactérias da rizosfera de plantas da Caatinga

Inicialmente, 100  $\mu\text{l}$  de uma suspensão de  $1 \times 10^6$  conídios de *Colletotrichum musae* foi espalhada sobre a superfície de uma placa de Petri contendo meio de cultura BDA. Paralelamente, o extrato sólido obtido do metabolito de cada isolado foi dissolvido em DMSO (Dimetil sulfoxí) a 2% na concentração de  $40 \text{ mg mL}^{-1}$ . Então, uma alíquota de 20  $\mu\text{L}$  dessa dissolução foi inserida em um disco de papel de filtro de 8 mm diâmetro. Então, cinco discos com o metabólito a ser testado foram distribuídos no meio de cultura contendo o microrganismo alvo, sendo o conjunto posto em incubadora BOD por um período de 4 dias a 28°C e fotoperíodo de 12 horas.

Ao final do período de incubação, cada conjunto *Colletotrichum*-metabólito foi avaliado com base na formação de halo de inibição ao redor do disco com o metabólito (Figura 5).

Figura 5 - Teste de antibiose formação de halo de inibição.



Fonte: Elaborado pelo autor.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram obtidos 330 isolados de actinobactérias do solo da rizosfera das plantas da Caatinga. No teste de antagonismo direto (pareamento de microrganismos) 67 desses isolados mostraram atividade antagonista variável (fraca, moderada e forte) ao fungo *Colletotrichum musae*, conforme a Tabela 2.

Tabela 2 - Atividade antagônica de actinobactérias da rizosfera de plantas da Caatinga em relação ao agente da antracnose da banana

Nº	Cepa	Abreviatura	Local	Cor	Atividade biológica
1	EMB-Actb0244	ALGITA	Itatira	Branco	Fr
2	EMB-Actb0264	ALGITA	Itatira	Branco	Fr
3	EMB-Actb0271	ALGITA	Itatira	Amarelo Claro	Fr
4	EMB-Actb0277	ALGITA	Itatira	Branco	Fr
5	EMB-Actb0288	ANGITA	Itatira	Branco	M
6	EMB-Actb0290	ANGITA	Itatira	Marrom	M
7	EMB-Actb0291	ANGITA	Itatira	Amarelo Claro	M

8	EMB-Actb0292	ANGITA	Itatira	Marrom	M
9	EMB-Actb0296	ANGITA	Itatira	Branco	Fr
10	EMB-Actb0154	ARUITA	Itatira	Branco	Fr
11	EMB-Actb0172	ARUITA	Itatira	Amarelo Branco	M
12	EMB-Actb0205	ARUITA	Itatira	Branco	Fr
13	EMB-Actb0255	CATITA	Itatira	Amarelo Claro	Fr
14	EMB-Actb0261	CATITA	Itatira	Amarelo	Fr
15	EMB-Actb0262	CATITA	Itatira	Branco	Fr
16	EMB-Actb0267	CATITA	Itatira	Amarelo	Fr
17	EMB-Actb0145	COMITA	Itatira	Amarelo escuro	Fr
18	EMB-Actb0190	COMITA	Itatira	Amarelo Branco	Fr
19	EMB-Actb0208	COMITA	Itatira	Vermelho	Fr
20	EMB-Actb0339	CORFAI-2	Aiuaba	Preto	Fr
21	EMB-Actb0369	CORFAI-2	Aiuaba	Amarelo	Fr
22	EMB-Actb0313	CORFAI-4	Aiuaba	Amarelo Claro	Fr
23	EMB-Actb0134	ESPACA	Pacajus	Cinza	Fr
24	EMB-Actb0175	FACITA2	Itatira	Branco	Fr
25	EMB-Actb0142	FACITA2	Itatira	Amarelo	Fr
26	EMB-Actb0174	FACITA2	Itatira	Branco	Fr
27	EMB-Actb0228	FACITA2	Itatira	Amarelo	Fr
28	EMB-Actb0222	FACITA2	Itatira	Branco	Fr
29	EMB-Actb0238	FACITA2	Itatira	Branco	Fr
30	EMB-Actb0238	FACITA2	Itatira	Branco	Fr
31	EMB-Actb0162	FEBITA	Itatira	Alaranjado	Fr
32	EMB-Actb0227	FEBITA	Itatira	Amarelo Branco	Fr
33	EMB-Actb0230	FEBITA	Itatira	Branco	Fr
34	EMB-Actb0183	FREITA	Itatira	Amarelo Branco	Fr
35	EMB-Actb0281	IMBUITA	Itatira	Branco	M
36	EMB-Actb0282	IMBUITA	Itatira	Alaranjado	Fr
37	EMB-Actb0194	JUITA2	Itatira	Marrom	Fr
38	EMB-Actb0276	JUPITA	Itatira	Branco Marrom	Fr
39	EMB-Actb0310	MANAI-1	Aiuaba	Amarelo Claro	Fr
40	EMB-Actb0312	MANAI-1	Aiuaba	Amarelo Claro	Fr
41	EMB-Actb0317	MANAI-1	Aiuaba	Amarelo Claro	Fr
42	EMB-Actb0351	MANAI-2	Aiuaba	Amarelo	Fr
43	EMB-Actb0325	MANAI-3	Aiuaba	Branco	Fr
44	EMB-Actb0328	MANAI-3	Aiuaba	Amarelo	Fr
45	EMB-Actb0331	MANAI-5	Aiuaba	Branco	Fr
46	EMB-Actb0336	MANAI-5	Aiuaba	Marron Claro	Fr
47	EMB-Actb0337	MANAI-5	Aiuaba	Branco	Fr
48	EMB-Actb0298	MANIPITA	Itatira	Branco	Fr
49	EMB-Actb0302	MANIPITA	Itatira	Branco	Fr
50	EMB-Actb0242	MANITA	Itatira	Amarelo escuro	Fr
51	EMB-Actb0253	MANITA	Itatira	Branco	M
52	EMB-Actb0260	MANITA	Itatira	Marrom	Fr
53	EMB-Actb0245	MARITA	Itatira	Branco	Fr
54	EMB-Actb0299	MARITA	Itatira	Branco	F
55	EMB-Actb0195	MORITA	Itatira	Amarelo	Fr
56	EMB-Actb0214	MORITA	Itatira	Amarelo	Fr
57	EMB-Actb0232	OITITA2	Itatira	Rosa	Fr
58	EMB-Actb0128	PBPO	Potiretama	Amarelo	Fr
59	EMB-Actb0258	QUIXITA	Itatira	Branco	Fr
60	EMB-Actb0272	QUIXITA	Itatira	Alaranjado	Fr
61	EMB-Actb0165	QUIXITA2	Itatira	Amarelo	Fr

62	EMB-Actb0167	QUIXITA2	Itatira	Amarelo Branco	Fr
63	EMB-Actb0168	QUIXITA2	Itatira	Marrom	Fr
64	EMB-Actb0171	QUIXITA2	Itatira	Marrom	Fr
65	EMB-Actb0218	QUIXITA2	Itatira	Amarelo	Fr
66	EMB-Actb0220	QUIXITA2	Itatira	Amarelo	Fr
67	EMB-Actb0305	SABITA	Itatira	Rosa	M

Fonte: Elaborado pelo autor.

\*F-forte (30-40mm); M-moderado (20-30mm); Fr-fraco (0-20mm).

Contudo desses 67 isolados que mostraram atividade antagonista contra *C. musae* apenas o metabólito do isolado EMB-Actb0171 teve ação antifúngica contra o microrganismo alvo. O halo antagonista desta actinobactéria medido a partir do disco contendo o metabólito foi de 25 mm, enquanto o halo dos demais isolados foi praticamente nulo.

Esse resultado mostrou que nem sempre a ação antagonista deve-se a produção de metabólitos pelo isolado microbiano (BAKER; COOK, 1974), pois, alguns dos isolados de actinobactérias testados que tiveram ação antagonista apreciável pelo teste de pareamento, não mostraram qualquer atividade antagonista contra o microrganismo alvo quando o seu metabólito foi testado.

Segundo Silva *et al.* (2016) a diversidade de microrganismos em planta do semiárido é muito dinâmica com produção de diversos metabolitos. Trabalhos de Silva-Lacerda *et al.* (2016) verificaram o potencial dos metabolitos de actinobactéria isoladas da rizosfera de plantas da caatinga contra *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Fusarium moniliforme* e *Candida albicans*. Outros autores comprovaram que a atividade de bactéria na região rizosférica de plantas tem potencial biotecnológico e industrial (SUN *et al.*, 2013; TAKETANI *et al.*, 2015; SZYMANSKA *et al.*, 2016).

## CONCLUSÕES

Actinobactérias da rizosfera de plantas da Caatinga podem ser antagônicas a *Colletotrichum musae*.

O metabólito do isolado EMB-Actb0171 tem atividade antagônica contra *C. musae*.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, U. P.; DE LIMA ARAUJO, E.; EL-DEIR, A. C.; DE LIMA, A. L.; SOUTO, A.; BEZERRA, B. M.; FERRAZ, E. M.; MARIA XAVIER FREIRE, E.; SAMPAIO, E. V.; LAS-CASAS, F. M.; DE MOURA, G. J.; PEREIRA, G. A.; DE MELO, J.

G.; ALVES RAMOS, M.; RODAL, M. J.; SCHIEL, N.; DE LYRA-NEVES, R. M.; ALVES, R. R.; DE AZEVEDO-JUNIOR, S. M.; TELINO JUNIOR, W. R.; SEVERI, W. Caatinga revisited: ecology and conservation of an important seasonal dry forest.  
**ScientificWorldJournal**, [S.I], v. 2012, p. 182-205, 2012.

ARA, I.; RIZWANA, H.; AL-OTHMAN, M. R.; BAKIR, M. A. Studies of actinomycetes for biological control of *Colletotrichum musae* pathogen during post harvest anthracnose of banana. **African Journal of Microbiology Research**, [S.I], v. 6, n. 17, p. 3879-3886, May 9 2012.

BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco:W. H. Freeman, 1974. 433 p.

CHO, S. S.; CHOI, Y. H.; SIMKHADA, J. R.; MANDER, P.; PARK, D. J.; YOO, J. C. A newly isolated *Streptomyces* sp. CS392 producing three antimicrobial compounds. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [S.I], v. 35, n. 1-2, p. 247-254, Jan 2012.

ELLAIAH, P.; RAJU, K. V.; ADINARAYANA, K.; ADINARAYANA, G.; SAISHA, V.; MADHAVI, S.; PREMKUMAR, J. Bioactive actinomycetes from Krishna River sediments of Andhra Pradesh. **Hindustan Antibiot Bull**, [S.I], v. 44, n. 1-4, p. 8-16, Feb-Nov 2002.

ESPINOSA, A.; SOCHA, A. M.; RYKE, E.; ROWLEY, D. C. Antiamoebic properties of the actinomycete metabolites echinomycin A and tirandamycin A. **Parasitology Research**, [S.I], v. 111, n. 6, p. 2473-2477, Dec 2012.

HIGGINBOTHAM, S. J.; MURPHY, C. D. Identification and characterisation of a *Streptomyces* sp. isolate exhibiting activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Microbiological Research**, [S.I], v. 165, n. 1, p. 82-6, 2010.

MANIVASAGAN, P.; VENKATESAN, J.; SIVAKUMAR, K.; KIM, S.-K. Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. **Microbiological Research**, [S.I], v. 169, n. 4, p. 262-278, April 2014.

MELLO, C. M. A.; DA SILVA, I. R.; DE PONTES, J. S.; GOTO, B. T.; DA SILVA, G. A.; MAIA, L. C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in an area of Caatinga, PE, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 26, n. 4, p. 938-943, Oct-Dec 2012.

OKORO, C. K.; BROWN, R.; JONES, A. L.; ANDREWS, B. A.; ASEÑJO, J. A.; GOODFELLOW, M.; BULL, A. T. Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. **Antonie Van Leeuwenhoek**, v. 95, n. 2, p. 121-33, Feb 2009.

PALANIYANDI, S. A.; YANG, S. H.; ZHANG, L.; SUH, J. W. Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 97, n. 22, p. 9621-9636, Nov 2013.

SANTOS, R. M.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; EISENLOHR, P. V.; QUEIROZ, L. P.; CARDOSO, D. B.; RODAL, M. J. Identity and relationships of the Arboreal Caatinga among other floristic units of seasonally dry tropical forests (SDTFs) of north-eastern and Central Brazil. **Ecology and Evolution**, [S.I], v. 2, n. 2, p. 409-428, Feb 2012.

SILVA-LACERDA, G. R.; SANTANA, R. C.; VICALVI-COSTA, M. C.; SOLIDONIO, E. G.; SENA, K. X.; LIMA, G. M.; ARAUJO, J. M. Antimicrobial potential of actinobacteria isolated from the rhizosphere of the Caatinga biome plant *Caesalpinia pyramidalis* Tul. **Molecular Research**, [S.I], v. 15, n. 1, p. 1-31, 2016.

SILVA, K. A.; SANTOS, J. M.; ANDRADE, J. R.; LIMA, E. N.; ALBUQUERQUE, U. P.; FERRAZ, E. M.; ARAUJO, E. L. The influence of microhabitat on the population dynamics of four herbaceous species in a semiarid area of northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo SP, v. 76, n. 1, p. 45-54, Jan 2016.

SREEVIDYA, M.; GOPALAKRISHNAN, S.; KUDAPA, H.; VARSHNEY, R. K. Exploring plant growth-promotion actinomycetes from vermicompost and rhizosphere soil for yield enhancement in chickpea. **Brazilian Journal of Biology**, [S.I], v. 47, n. 1, p. 85-95, Jan-Mar 2016.

SUN, J. B.; PENG, M.; WANG, Y. G.; LI, W. B.; XIA, Q. Y. The effects of different disease-resistant cultivars of banana on rhizosphere microbial communities and enzyme activities. **Fems Microbiology Letters**, [S.I], v. 345, n. 2, p. 121-126, Aug 2013.

SZYMANSKA, S.; PLOCINICZAK, T.; PIOTROWSKA-SEGET, Z.; ZLOCH, M.; RUPPEL, S.; HRYNKIEWICZ, K. Metabolic potential and community structure of endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte *Aster tripolium* L. **Microbiological Research**, [S.I], v. 182, p. 68-79, Jan 2016.

TAKETANI, R. G.; KAVAMURA, V. N.; MENDES, R.; MELO, I. S. Functional congruence of rhizosphere microbial communities associated to leguminous tree from Brazilian semiarid region. **Environmental Microbiology Reports**, [S.I], v. 7, n. 1, p. 95-101, Feb 2015.

VAN DER VOORT, M.; KEMPENAAR, M.; VAN DRIEL, M.; RAAIJMAKERS, J. M.; MENDES, R. Impact of soil heat on reassembly of bacterial communities in the rhizosphere microbiome and plant disease suppression. **Ecology Letters**, [S.I], v. 19, n. 4, p. 375-382. Feb 2016.

ZAKARIA, L.; SAHAK, S.; ZAKARIA, M.; SALLEH, B. Characterisation of *colletotrichum* species associated with anthracnose of banana. **Tropical Life Sciences Research**, [S.I], v. 20, n. 2, p. 119-25, Dec 2009.

#### **4 EFEITO DE UM METABOLITO DE EMB\_ACTB\_171 DA RIZOSFERA DE PLANTAS DA CAATINGA CONTRA *Colletotrichum Musae* AGENTE CAUSAL ANTRACNOSE DOS FRUTOS DA BANANEIRA**

##### **RESUMO**

A aplicação de fungicidas químicos no controle de fitopatógenos tem se intensificado, causando preocupação aos consumidores e ambientalistas. Com relação à cultura da bananeira não tem sido diferente. Portanto, o uso de produtos biológicos tem sido visto como uma excelente alternativa aos produtos sintéticos. Dentre esses produtos destacam-se os metabólitos oriundos de microrganismos, tais como aqueles produzidos por actinobactérias. O objetivo do presente trabalho foi testar um metabolito extraído da *Streptomyces showdoensis*, isolada da rizosfera de plantas da Caatinga cearense, contra o fungo *Colletotrichum musae*, agente causal dâ a antracnose dos frutos da bananeira. O teste in vitro foi realizado pelo método de seleção das concentrações em microplaca, de acordo com a metodologia do CLSI (Manual Clinical and Laboratory Standards Institute), na qual foi determinada a Concentração Mínima de Inibição (CIM) e a Mínima Concentração Fungicida (MCF). Para o teste in vivo, foi testado o metabólito da actinobactéria (*Streptomyces* sp.) nos tempos de aplicação de 3,0; 1,5; 0 h (antes da aplicação da suspensão de conídios de *C. musae*) e 1,5 e 3,0 h após a inoculação do fungo. O metabolito (300 µL) foi aplicado na forma de spray, uniformemente sobre os frutos, em cinco concentrações (0,00; 12,50; 25,00; 50,00; 100,00 mg mL<sup>-1</sup>), mais um controle positivo, representado pelo fungicida TECTO® SC ( 92 ml/100 L), em seguida à aplicação da suspenção de conídios 20 µL( 1x10<sup>6</sup>). Para o teste do efeito *in vitro* o CIM e CFM foram de 12,50 e 25,00 mg mL<sup>-1</sup>, respectivamente, e no teste *in vivo* o efeito do metabolito ficou demonstrado em os tempos de aplicação, não obstante, quando aplicado 1,5 h antes do patógeno, o efeito tenha apresentado o melhor resultado, provavelmente devido ao pico de atividade do efeito do metabolito na superfície dos frutos. O metabolito da actinobactéria *S. showdoensis* teve efeito antifúngico tanto *in vivo* como *in vitro* para o tratamento pós-colheita em frutos de bananeira, no entanto, mais estudos devem ser realizados em condições de campo a fim de se desenvolver metodologias de aplicação, as quais possam ser mais facilmente utilizadas de forma eficiente, em grande escala, além da necessidade de se determinar a natureza química dos metabólitos.

**Palavras-Chaves:** Actinobactéria. Controle biológico. Antifúngico.

## ABSTRACT

The increasing interest in alternative methods of disease control to synthetic chemical has lead to numerous studies over the last few decades. There has been a clear tendency towards explotation of natural products to replace synthetic fungicides that are used directly on harvested fruits which are consumed almost immediately by consumers. One of the main classes of compounds is those produced by Actinobacteria. The purpose of the present work was to test a metabolite produce by an isolate of *Streptomyces* obtained from rhizosphere of plants typical of the biome Caatinga, a semi-arid area of the Northeastern Brazilian region. *In vitro* tests were conducted through the selection of metabolite concentrations in microplates, according to the methodology of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) manual, which allowed the determination of the minimal inhibitory concentration (MIC) and the minimal fungicidal concentration (MFC). As for *in vivo* tests the metabolite of *S. showdoensis* (300 µL) was evenly sprayed on the fruits at the following times: 3, 1.5, and 0 hours before the *C. musae* conidial suspension be applied on the fruits, and 1.5 and 3 hours after the fungus inoculation. The following concentrations of the metabolite were applied: 0,00; 12,50; 25,00; 50,00; 100,00 mg mL<sup>-1</sup>, plus a positive control of a commercial fungicide TECTO® SC (92 mg/mL), followed by the fungus inoculation ( 20 mL of 10<sup>6</sup> conidia/mL suspension). For *in vitro* tests the MIC and MFC values were, respectively, 12,50 e 25,00 mg mL<sup>-1</sup>. As for *in vivo* tests al metabolite concentrations showed detectable effects, despite the best result had been at 1,5 hours before the pathogen inoculation, probably due to the peak of metabolite activity. Despite showing fungicidal activity against *C. musae*, either *in vitro* or *in vivo* conditions, more tests aiming to evaluate the metabolite effects of *S. showdoensis* in bigger experiments, as well as the determination of the chemical structure of metabolites are warranted.

**Keywords:** Actinobactéria. Biological control. Antifungal.

## INTRODUÇÃO

A banana é uma das frutas que representam internacionalmente uma renda econômica importante para vários países em desenvolvimento tropicais como o Brasil (FAO 2016). No entanto, a sua produção é frequentemente afetada por doenças principalmente a antracnose da banana que além de depreciar o fruto também o uso frequente de agrotóxicos,

pode deixar resíduos no fruto que são prejudiciais à saúde e devido à seu potencial carcinogênico (MARI *et al.*, 2003).

Métodos alternativos para controlar doenças, particularmente aqueles que são seguros ambientalmente (JAYASINGHE & PARKINSON, 2009; BENOUGUENI *et al.*, 2015; PASSARI *et al.*, 2015). Como alternativa as actinobactérias, tem sido explorado principalmente pela indústria farmacêutica na produção de antibióticos e antifúngicos (MANIVASAGAN, P. *et al.*, 2014; LAHOUM *et al.*, 2016), contudo alguns autores têm estudado o uso desses metabolitos no controle de doenças fitopatogênicas (POSTOLAKY *et al.*, 2012; PHUAKJAIPHAEO *et al.*, 2016).

As actinobactérias, anteriormente denominadas actinomicetes, são classes heterogêneas de bactérias gram-positivas que formam hifas multinucleadas que se ramificam formando um micélio (GOODFELLOW *et al.*, 2012). Possuem alto teor de G+C em seu DNA, onde pode chegar 70% para o gênero *Streptomyces* sp. e *Frankia* sp. (CHEN *et al.*, 2014). As actinobactérias possuem micélio rudimentar, que formam esporos de forma assexuada (ROSENBERG *et al.*, 2014).

Essas bactérias são grandes produtoras de substâncias metabólicas na proteção das plantas e também estimulam crescimento, interação benéfica com outras rizobactérias (PEMILA EDITH CHITRASELVI *et al.*, 2015). solubilização de fosfato inorgânico (LUIS *et al.*, 2014) e orgânico (DE OLIVEIRA *et al.*, 2010), porém, a maior parte das pesquisas e produtos existentes ligados às actinobactérias são em função da capacidade de produção de substâncias antimicrobianas (KHANDAN DEZFULLY & GOTTRAVALLI RAMANAYAKA, 2015; ZANI *et al.*, 2015).

As actinobactéria podem ser encontradas em muitos ambientes como: marinho (THI *et al.*, 2016), arido (ZUCCHI *et al.*, 2012; KUTOVAYA *et al.*, 2015) e pode ser encontrado no bioma da Caatinga, contudo é um ambiente pouco explorado, com uma diversidade de microrganismo com grande potencial biotecnológico, nesse bioma é caracterizado pela vegetação xerófita com arbustos espinhoso, formada principalmente pelas leguminosas, euforbiáceas e cactáceas (ALBUQUERQUE *et al.*, 2012; LANCONI *et al.*, 2013).

Os microrganismos nesse ambiente desempenham funções ecológicas importantes como a ciclagem de nutrientes e a manutenção do ecossistema (MENEZES *et al.*, 2012; SILVA-LACERDA *et al.*, 2016), disponibilizando nutrientes para as plantas (PACCHIONI *et al.*, 2014) e na proteção das plantas, principalmente na região da rizosfera, enriquecida de

substâncias provenientes do metabolismo das plantas, estabelecendo o equilíbrio biológico (SOARES *et al.*, 2012; NESSNER KAVAMURA *et al.*, 2013; TAKETANI *et al.*, 2015).

A utilização dessa bactéria tem sido relatada como produtora de antifúngico (KANG *et al.*, 2010; LU *et al.*, 2016) Segundo Gangwar; Kataria (2013) testando dezessete isolados de actinobactérias produziram catecol variando entre 2,68-51,6 mg mL<sup>-1</sup>, enquanto 22 isolados produziram hidroxamato que variou de 8,71-144,21 mg mL<sup>-1</sup> foram ativos contra oito fungos fitopatogênicos. Trabalhos de Khamna *et al.* (2009) verificaram que 23 isolados de *Streptomyces* sp. mostraram bioatividade para cinco fungos fitopatogênicos: *Alternaria brassicicola*, *Collectotrichum gloeosporioides*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium digitatum* e *Sclerotium rolfsii*.

Baseado neste contexto é importante investigar o potencial biotecnológico das actinobactérias da Caatinga, pois este microrganismo tem grande potencial na produção de metabólitos secundários bioativos para a aplicação em diversos ramos da indústria agropecuária e farmacêutica. O objetivo de nosso trabalho é a utilização desse metabolito bioativos no controle da antracnose da banana.

## MATERIAL e METODOS

As avaliações foram realizadas na Embrapa agroindústria tropical Fortaleza Ceará e a actinobactéria EMB\_Actb\_171 foi obtida da rizosfera da planta Quixabeira (*Sideroxylon obtusifolium*) no município de Itatira - Ceará coordenadas 4°33'7.98"S e 39°38'24.48"O.

### Obtenção dos metabólitos secundários

A estirpe EMB\_Actb\_171 foi cultivada em caldo Czapek dox (sacarose 30 g; NaNO<sub>3</sub> 3g; K<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1g; MgSO<sub>4</sub> 0,5 g; FeSO<sub>4</sub> 0,5 g; KCl 0,5 g; 1000 ml agua destilada) sob agitação a 170 rpm a 28 °C durante 20 dias. Após esse período de incubação, 10 litros do meio Czapek Dox contendo a estirpe foi filtrada ao vácuo com filtro de nitrocelulose de 0,22 µm. A separação foi realizada em solvente orgânico acetato de etila (1/3 do volume total) em funil de separação, a extração dos metabólitos secundários foi repetida três vezes. O extrato orgânico, obtidos após a filtração foi rotaevaporado, logo em seguida liofilizada, pesado e armazenado sob refrigeração, para utilização no bioensaios posteriores (MANIVASAGAN, PANCHANATHAN *et al.*, 2014).

## Avaliação da concentração mínima de inibição (CIM) e mínima concentração fúngica (MCF) e do efeito do metabolito sobre a integridade dos conídios

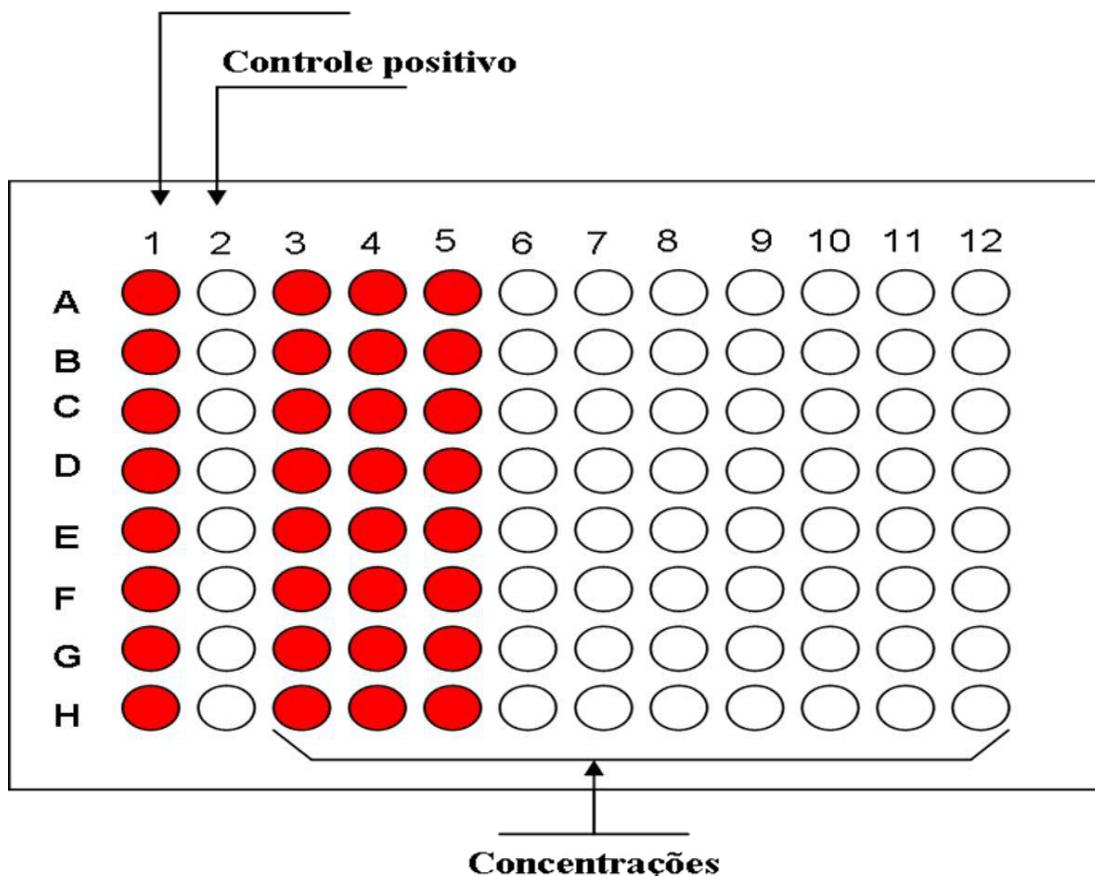
Na avaliação da Concentração Mínima Inibitória (CIM) e Mínima Concentração Fúngida (MCF) foi de acordo com a metodologia descrita segundo as normas do Manual Clinical and Laboratory Standards Institute CLSI (HAWSER *et al.*, 2010; CHOWDHARY *et al.*, 2014), foi utilizando microplaca (96 poços 12 X 8) preenchidos com 100 µL de Caldo Mueller Hinton. Em seguida foi acrescentado 100 µL do metabólito extraído da actinobactéria *S. showdoensis* foi diluído em DMSO (Dimetilsulfóxi) 2%, nas placas a diluição foi seriada de 100 a 100000 µg.mL<sup>-1</sup> (CANOVA *et al.*, 2010).

O fungo pós-colheita *Colletotrichum. musae* (MMBF226/12) obtido da Micoteca do Instituto Biológico São Paulo, foram previamente inoculadas em BDA a 35°C/7 dias, para a extração a suspensão de esporos. A contagem dos conídios foi realizada em câmara de Neubauer, obtendo uma concentração de 10<sup>6</sup> esporos mL<sup>-1</sup> (LEE & HWANG, 2002), que foram adicionadas em cada orifício das microplacas 20 µl. Como controle positivo foi utilizado o fungicida comercial TECTO® SC (Tiabendazol) na concentração de 92 mg/mL, com exceção da coluna destinada para o controle de negativo com somente o meio e a suspenção de esporo (Figura 6).

A leitura foi feita verificando a concentração inibitória mínima de fungos (CIM-f), com auxílio do revelador TTC Triphenyl Tetrazolium Chloride, verificando a menor concentração das amostras capaz de inibir o crescimento do microrganismo (CIM) em 48 horas após a incubação. Em seguida, foi retirado uma alíquota de 50 µL dos poços sem crescimento fúngico pour-plate em BDA e incubado, durante 5 dias para verificação de aparecimento de colônias fúngica. De acordo com a inibição do fungo foi estabelecida a concentração mínima fúngicida (CFM) (VISWANATH *et al.*, 1977).

Uma outra alíquota foi colocada e lâmina com corante azul de Aman e observado o efeito do metabolito sobre os conídios de *C. musae* na objetiva de 630 x.

Figura 6 - Teste de concentração mínima de inibição e concentração mínima fungicida  
**controle negativo**



Fonte: Elaborado pelo autor.

#### Efeito do metabolito da actinobactéria sobre o fungo *C. musae* *in vivo* na banana

Os frutos de banana foram obtidos do Ceasa de Fortaleza-CE, em estádio pré-climatério, foram lavados com detergente neutro a 1%, sanitizados em hipoclorito 200 ppm por 2 minutos, em seguida lavada em água destilada e secados a sombra para posterior bioensaio.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tempo de aplicação do metabolito da actinobactéria EMB\_Actb\_171 (-3 horas; -1 hora e 30 minutos) o símbolo de negativo (-) indica que o metabolito foi aplicado primeiramente, depois foi a inoculação do fungo *C. musae*, (+3, horas; +1 hora e 30 minutos) símbolo positivo (+) indica que o metabolito foi aplicado antes da inoculação do fungo e o tempo zero os dois foram sequencialmente aplicados, com cinco concentrações (0,0; 12,5; 25,0; 50,0; 100,0 mg mL<sup>-1</sup>), o

metabolito o volume de aplicação foi de  $\pm 300 \mu\text{L}$  por spray no local perfurado, as bananas foram divididas em 5 buques de três frutos, sendo 15 frutos por repetição, foram adicionados dois controle um com Tecto a 92 ml/100 L e outro com somente agua destilada sem metabolito, a inoculação do fungo foi utilizado 20  $\mu\text{L}$  com concentração de  $1 \times 10^6$  conídios por mililitro, o ferimento foi realizado com um perfurador de 10 agulhas de 1 mm de diâmetro de 6,72 mm.

Os frutos foram incubados em uma câmara controlada com temperatura a 27°C, umidade relativa de 80% e fotoperíodo de 12/12 horas. A avaliação foi realizada diariamente, onde foi medido o diâmetro da lesão formada nos frutos diariamente, com o auxílio de um paquímetro digital. Os dados obtidos foram analisados por regressão em função do tempo pela concentração dos metabolitos.

### **Caracterização morfológica**

Para a caracterização morfológica dos isolados selecionados considerou-se como prováveis actinobactérias aqueles microrganismos que possuírem características do grupo como: esporulação, colônia pequena, ressecada e aderida ao ágar. Foi realizada também a coloração de GRAM (GOODFELLOW *et al.*, 2012). Depois de realizada a coloração de Gram das amostras, as mesmas foi submetida à análise das características morfológicas culturais, do isolado *S. showdoensis* metabolicamente bioativos foi inoculado em meio Waksman e Projeto Internacional Streptomyces (IPS) meios específicos para a caracterização (SHIRLING, 1956), foi realizado em placas de Petri e deixado incubar por 10 dias, foram avaliados as características culturais como; crescimento micelial, formato da colônia (Puntiforme, Circular, Filamentosa, Irregular, Rizóide e Fuso), cor do micélio segundo RAL (Reichsausschuß für Lieferbedingungen) e bordo (Inteiro, Ondulado, Lobado, Erosado, Filamentoso e Rugoso) (GOODFELLOW *et al.*, 2012; ROSENBERG *et al.*, 2014). A identificação das actinobactérias foi realizada através da utilização de fontes de carbono, produção de enzimas extracelulares, crescimento em Ph diferentes, concentração de lisozima e Cloreto de sódio (GOODFELLOW & FIEDLER, 2010; SONAWANE *et al.*, 2016) (Figura 7).

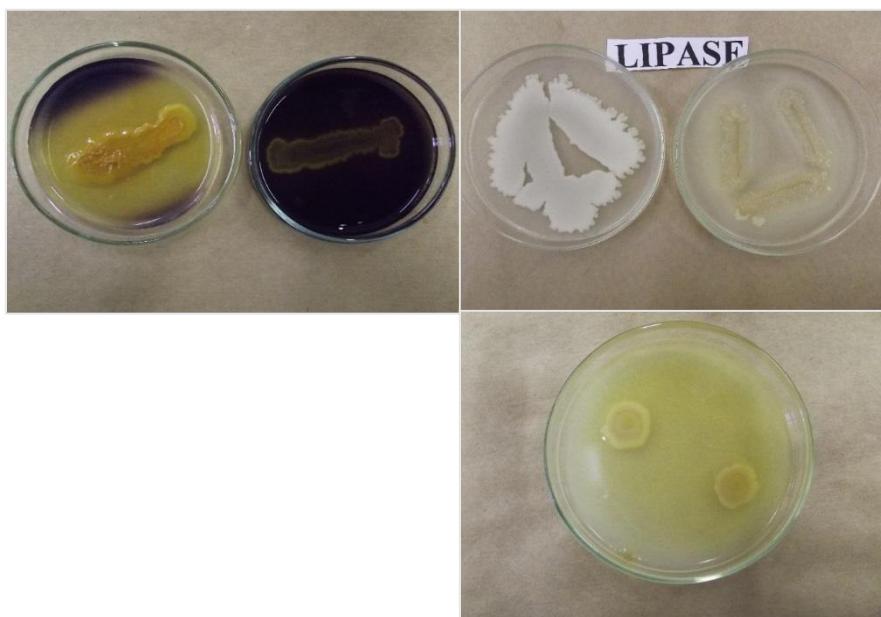
## Enzimática e Promotores de crescimento

Avaliou-se a propriedade enzimáticas da actinobactéria: celulase (DA VINHA *et al.*, 2011), quitinase (NGUYEN-THI & DOUCET, 2016), caseinase (ABU-GHAZALEH, 2010), catalase (MARTINEZ-ROJAS *et al.*, 2014), Lipase (SRIYAPAI *et al.*, 2015), Pectinase (KAUNAT e BERNHARD, 1969). Avaliou-se as actinobactérias como promotores de crescimento como: Solubilização de fosfato (SAHU *et al.*, 2007) e uréase (LI *et al.*, 3013).

## Fermentação com diferentes fontes de carbono

Para esse teste foi utilizado o meio básico mineral e cinco fontes e carbono: arabinose, sacarose, glicose, inositol e manose. O meio foi vertido em tubos de ensaio acrescido de azul de bromotimol 0,01%, logo após a inoculação das actinobactérias através de perfuração com alça de platina, foi acrescentado 2 ml de glicerol, para favorecer o um ambiente anaeróbico (Figura 8). A leitura do teste quando a coloração mudou para amarelo (positivo para fermentação) e não mudou de coloração continuou azul (negativo para fermentação).

Figura 8 - Teste enzimático



Fonte: Elaborado pelo autor.

## **Caracterização molecular da actinobactéria bioativa**

A extração de DNA da actinobactéria EMB\_Actb\_171 foi realizada a partir de culturas em meio líquido por um período de 48 horas, em seguida a extração do DNA foi através do kit Bacterial Genomic DNA Purification (HIMEDIA®).

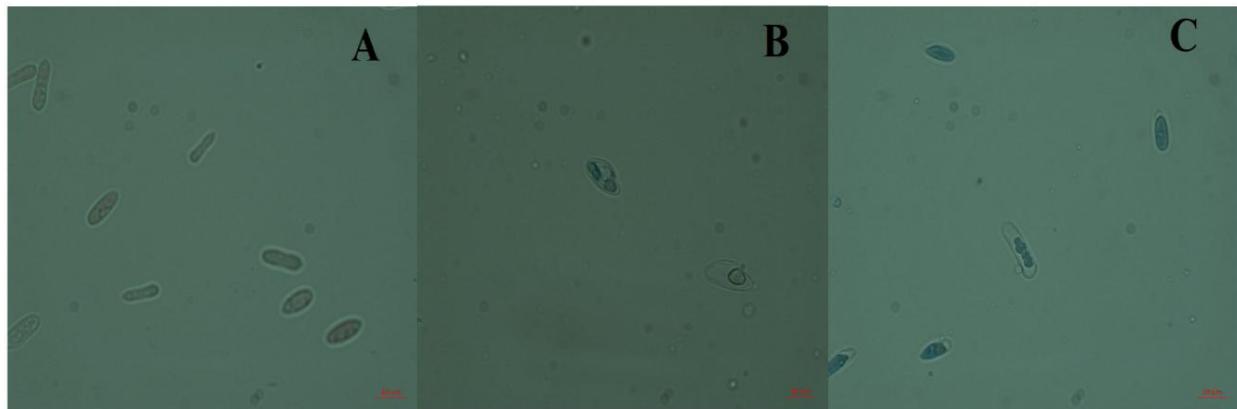
A amplificação por PCR da região 16S ribossomal, utilizando oligonucleotídeo para Eubactéria (27f 5'-GAGTTGATCMTGGCTCAG-3') e (1492r 5'-ACGGYTACCTTGTACGACTT - 3') segundo Lane (1991). A amplificação foi realizada com o kit de PCR EmeraldAmp® GT PCR Máster Mix (TAKARA). A reação de PCR foi realizada de acordo com a literatura citada acima desnaturação inicial 94° C por 4 min, 30 ciclos de desnaturação, anelamento (98°C/10 s, 60°C/30 s e 72° C/1,5 min, respectivamente). Após a amplificação, 5 µL da reação de PCR verificada a amplificação em gel de agarose. O produto de sequenciamento foi comparado no Genbank, utilizando o software Blast do National Center for Biotechnology Information (NCBI) ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

## **RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **Efeito do composto metabólico da actinobactéria EMB\_Actb\_171**

Efeito do metabolito da actinobactéria EMB\_Actb\_171 sobre o fungo *Colletotrichum musae* pelo método CLSI, onde a concentração mínima inibitória (CMI) foi de 12,5 mg mL<sup>-1</sup> e para concentração mínima fúngica (CMF) 25,00 mg mL<sup>-1</sup>, mostrando que o metabolito teve efeito sobre fungo comparado o fungicida TECTO SC. Mostrou-se que o metabolito tem efeito sobre a parede do fungo e sobre o seu aparato interno dos conídios (Figura 10).

Figura 10 - Efeito do metabolito da actinobactéria EMB\_Actb\_171 sobre o fungo *Colletotrichum musae*, (A) controle negativo efeito sem o metabolito; (B) controle positivo TECTO SC; (C) efeito do metabolito EMB\_Actb\_171 na concentração de 25 mg mL<sup>-1</sup>.



Fonte: Elaborado pelo autor.

O efeito na Figura 1B demostra o rompimento da parede comparados com a Figura 1<sup>a</sup>, a Figura 1C mostra o murchamento do aparato interno dos conídios, enquanto no controle negativo não houve nenhuma alteração do material e nem extravasamento do aparato interno. A actinobactéria do gênero *Streptomyces* possui atividades líticas agem principalmente pela lise por enzimas, tais como quitinase e glucanase (YASIR *et al.*, 2009; SOARES JUNIOR *et al.*, 2013). A quitina é um principal componente da parede da célula fúngica é como substrato para a enzima de quitinase (HOELL *et al.*, 2006; GANGWAR *et al.*, 2016).

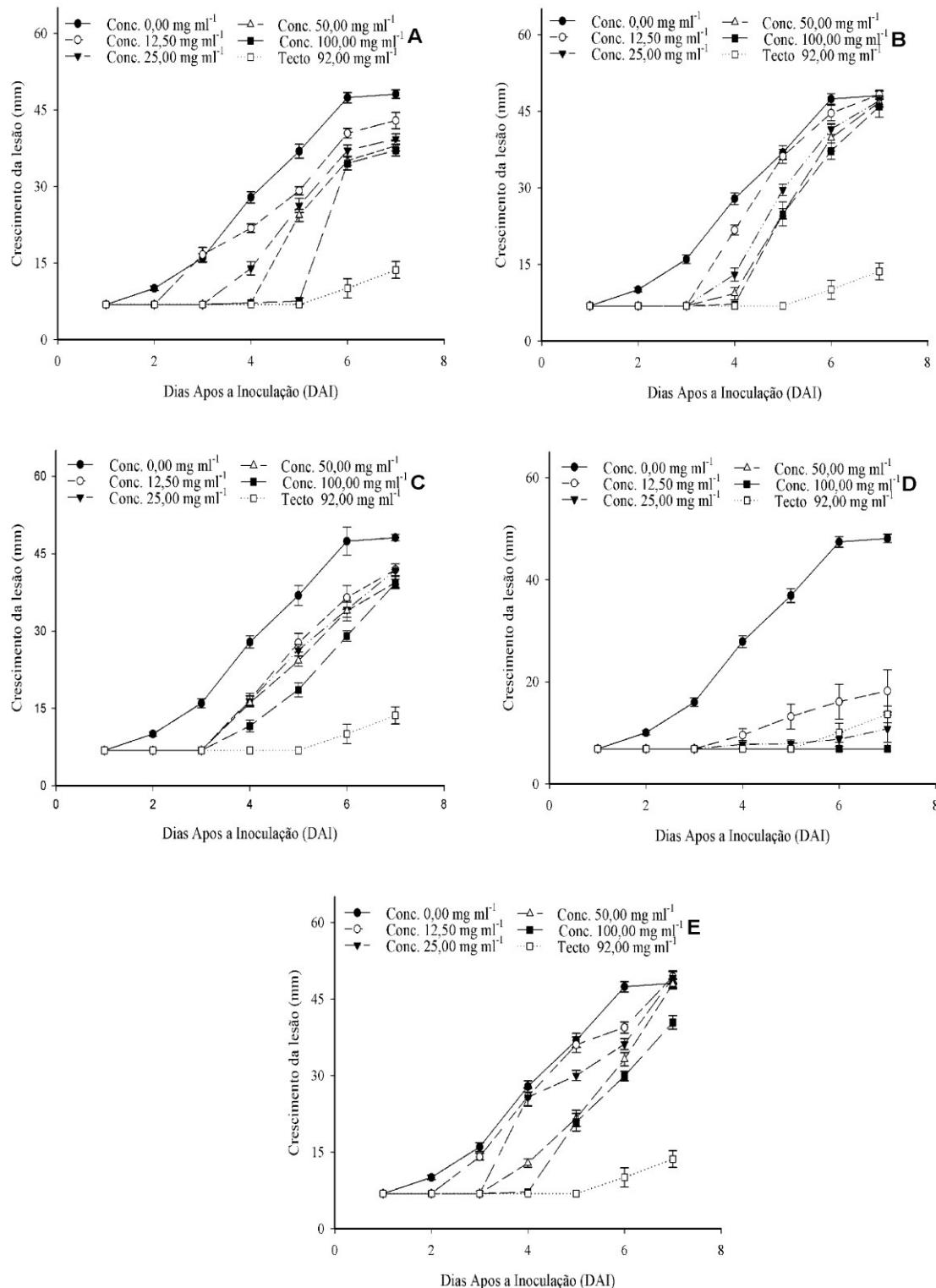
Zhang *et al.* (2011) verificaram que a actinobactéria *Streptomyces hygroscopicus* BS-112 o metabolito obtido, apresentou bioatividade antifúngica a *Aspergillus flavus*, com MIC 1,56 µg mL<sup>-1</sup> e MFC 3,13 µm mL<sup>-1</sup>. Segundo Arasu *et al.* (2013) verificaram que metabolito de actinobactéria teve efeito antifúngico a *Candida albicans* e *Aspergillus niger* com valores de MIC foi de 12,5 e 25 mg mL<sup>-1</sup>. Trabalhos de Lahoum *et al.* (2016) a actinobactéria *Actinomadura sp* teve efeito antifúngica contra fungos toxogenicos *Aspergillus carbonarius*, *A. niger*, *A. westerdijkiae*, *A. flavus* E73 *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum* e *Penicillium expansum*, o MIC variou entre a concentrações de 2–100 mg/mL<sup>-1</sup>.

**Efeito *in vivo* do composto metabólico da actinobactéria EMB\_Actb\_171 sobre o fungo *Colletotrichum musae* em frutos de banana.**

O composto obtido da actinobactéria EMB\_Actb\_171 teve efeito sobre o fungo pós-colheita *C. musae* em função das concentrações, apresentando menores valores no tratamento onde colocou-se o metabolito primeiro e -1,5 horas depois da inoculação do fungo, comparado com demais tratamentos (+3h, -3h, +1h 30 min e 0 horas), tiveram diferença significativa entre os tempos as concentrações (Tabela 1). No presente estudo, o no ensaio antagonista *in vitro* demonstrou resultados promissores, para a utilização de EMB\_Actb\_171 como agentes antifúngicos contra fungos fitopatogênicos. Semelhante os resultados têm sido relatados anteriormente na triagem de actinobactéria (AL-ASKAR *et al.*, 2011).

A redução do diâmetro da lesão e inibição da doença em frutos no ensaio *in vivo* pelo isolado EMB\_Actb\_171 indicam fortes agentes antifúngicos contra *C. musae*. O uso de agentes microbianos específicos trouxe notável sucesso no controlo de patógenos de plantas (OKIGBO, 2003). Muitas actinobactérias, especialmente, género *Streptomyces* teve atividade antifúngica a fitopatógenos (BERG *et al.*, 2005; CAO *et al.*, 2005; AL-ASKAR *et al.*, 2011; ISMET, 2012).

Figura 2 - Efeito do metabolito da actinobactéria em resposta da concentração pelo tempo  
aplicação A= 3,00 horas depois; 1hora e 30 minutos depois C= 3horas antes; 1 hora e 30  
minutos antes e 0,00 horas os dois foram aplicados juntos.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Vários estudos recentes têm demonstrado que o antagonista microrganismos do género *Streptomyces* e *Bacillus* (GOVENDER *et al.*, 2005; LI *et al.*, 2010). pode ajudar a limitar infecções fúngica de patógeno pós-colheita, *Bacillus subtilis* têm ação antagonistas contra o agente causal da antracnose, podridão flor e podridão da coroa de banana (ALVINDIA & NATSUAKI, 2009). Tratamento com *B. subtilis* em frutos de manga diminui o desenvolvimento da antracnose (KEFIALEW & AYALEW, 2008; ZHENG *et al.*, 2013). Segundo Zhang *et al.*, (2016) utilizando *Streptomyces rochei* A-1 verificaram ação na inibição da doença *Botryosphaeria dothidea* em frutos pós-colheita da maçã. Os resultados corroboram com nosso trabalho, mostrando que *S. showdoensis* restringir o *in vitro* e *in vivo* crescimento e germinação de conídios de *C. musae*, importante patógeno em doenças pôs-colheita na banana.

Tabela 1 - Analise de regressão do isolado EMB\_Actb\_171 sobre diferentes concentrações e diferentes tempos de aplicação do metabolito.

<b>+3 horas</b>						
<b>Concentração</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>G1</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>F</b>	<b>P</b>
0,00	-3,734	7,834	4	0,96**	159,566	0,0001
12,50	-3,299	6,708	4	0,96**	159,8602	0,0001
25,00	-5,698	6,324	4	0,87**	41,2337	0,0014
50,00	-6,002	5,971	4	0,78**	22,5718	0,0051
100,00	-5,677	5,240	4	0,80**	9,2454	0,0287
Fungicida	4,481	0,952	4	0,77*	7,7349	0,0388
<b>+1 horas 30 minutos</b>						
0,00	-3,734	7,834	4	0,96**	159,5667	0,0001
12,50	-8,232	8,181	4	0,89**	54,0366	0,0007
25,00	-8,679	7,592	4	0,85**	36,8581	0,0018
50,00	-8,894	7,272	4	0,80**	26,0371	0,0038
100,00	-8,584	6,995	4	0,78**	22,7082	0,0050
Fungicida	4,481	0,952	4	0,77*	7,7349	0,0388
<b>-3 horas</b>						
0,00	-3,734	7,834	4	0,96**	159,56	0,0001
12,50	-5,146	7,665	4	0,96**	148,863	0,0001
25,00	-6,695	7,448	4	0,90**	55,2143	0,0007
50,00	-7,762	6,806	4	0,82**	28,7679	0,0030
100,00	-5,960	5,739	4	0,77**	21,7779	0,0055
Fungicida	4,481	0,952	4	0,77*	7,7349	0,0388
<b>-1 hora 30 minutos</b>						
0,00	-3,734	7,834	4	0,96**	159,560	0,000
12,50	2,692	2,101	4	0,88**	49,224	0,001
25,00	5,610	0,589	4	0,75**	19,381	0,007
50,00	6,870	0,000	4	1,00	-----	-----
100,00	6,870	0,000	4	1,00	-----	-----
Fungicida	4,481	0,952	4	0,77*	7,735	0,039
<b>0,00 horas</b>						
0,00	-3,734	7,834	4	0,96**	159,560	0,000
12,50	-5,953	6,612	4	0,89**	54,506	0,001
25,00	-5,638	6,385	4	0,90**	55,264	0,001
50,00	-4,977	6,037	4	0,95**	53,547	0,001
100,00	-4,874	5,473	4	0,82**	29,728	0,003
Fungicida	4,481	0,952	4	0,77*	7,735	0,039

Fonte: Elaborado pelo autor

\*\* e \* A regressão foi comparado pelo teste t student a 1 e 5% de probabilidade.

Govender *et al.* (2005) tratando com estirpe de *Bacillus subtilis* em frutos de manga com diminui o desenvolvimento da lesão da antracnose. Os resultados mostram que a estirpe EMB\_Actb\_171 restringiu tanto teste *in vitro* e *in vivo* crescimento e germinação de conídios de *C. musae*, patógeno comum e economicamente importante em frutos de banana.

O presente trabalho demonstrado *in vitro* e *in vivo* potencial desta actinobactéria selecionada para controlar a mais importantes fungos patogénicos que causam fruta antracnose na banana. No entanto, mais estudos são necessários para avaliar o efeito de potenciais agentes de controle biológico em condições de estufa e de campo e também para purificar e caracterizar os metabólitos secundários produzido por estas actinomicetos.

### **Caracterização do isolado EMB\_Actb\_171**

A Caracterização morfológicos todos os isolados mostraram a formação de micélio e colônias irregulares, de coloração amarelo, amarelo pálido, creme, branco e marrom e forma ondulada, lobada e rugosa com teste Gram foram positivos para todos os isolados antagonistas provenientes do solo.

Tabela 2 - Caracterização cultural do isolado EMB\_Actb\_171 segundo IPS (International Project Streptomyces).

<b>Crescimento</b>						
<b>Meios</b>	<b>micelial</b>	<b>Cor</b>	<b>Pigmentos</b>	<b>Superfície</b>	<b>Forma</b>	<b>Borda</b>
Waks	+++	Branco	-	Erosada	Irregular	Ondulada
IPS2	+	Creme	-	Erosada	Irregular	Ondulada
IPS3	++	Creme	-	Erosada	Irregular	Ondulado
IPS4	++	Branco	-	Erosada	Irregular	Ondulado
IPS5	+	Marrom	-	Erosada	Irregular	Ondulado
IPS6	-----	-----	-	-----	-----	-----
IPS7	-----	-----	+	-----	-----	-----

Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 3 - Caracterização do isolado *Streptomyces showdoensis* em fontes diferentes de carbono, enzimática e diferentes pH.

<b>Fonte de Carbono</b>	<b>EMB_Actb_171</b>	<b>Enzimática</b>	<b>EMB_Actb_171</b>	<b>pH</b>	<b>EMB_Actb_171</b>
Glicose	-	Celulase	+	3	-
Sacarose	+	Lipase	-	4	-
Maltose	+	Caseinase	+	5	+
Xilose	+	Amilase	-	6	+
Arabinose	+	Quitinase	+	7	+
Manitol	+	Peroxidase	+	8	+
Raminose	+	Fosfatase	+	9	+
Inositol	-	Urease	-	10	-
Rafinose	+	-----	-----	-----	-----
Lactose	+	-----	-----	-----	-----
Frutose	+	-----	-----	-----	-----

Fonte: Elaborado pelo autor

Tabela 4 - Caracterização do isolado **EMB\_ATC\_171** em diferentes concentrações de salinidade, diferentes concentrações de Lisozima e fermentação em diferentes fontes de Carbono.

<b>NaCl (mg/ml)</b>	<b>S. <i>showdoensis</i></b>	<b>Lisozima (mg/ml)</b>	<b>S. <i>showdoensis</i></b>	<b>Fermentação</b>	<b>S. <i>showdoensis</i></b>
0	+	0	+	Arabinose	+
2,5	+	12,5	+	Sacaraose	+
5	-	25	+	Glicose	-
7,5	-	37,5	-	Inositol	+
10	-	50	-	Mamose	+
-----	-----	-----	-----	-----	-----

Fonte: Elaborado pelo autor.

As Actinobactérias têm morfologia da cadeia de esporos que pode ser observada por estereoscópio óptica (GOODFELLOW & FIEDLER, 2010). As categorias morfológicas propostas por Stolnik *et al.* (1968) onde foi observada cadeia de esporos em meio de cultura,

superfície da colônia e coloração, também proposto por outros autores esses métodos (ZAKALIUKINA IU *et al.*, 2004). Substrato e pigmentos do micélio foram observados em meio ISP 4 (Meio amidos sais inorgânicos) categorizando em cinco grupos de cores provenientes da liberação de pigmentos solúveis no substrato (SELVAMEENAL *et al.*, 2009). Estudos de amostras de solo 131 isolados obtidos, testados e distribuídos em séries de acordo com a cor do micélio aéreo e cor da esporulação. Os membros da série cinzenta foram representados por 40% do total número de isolados; contudo, a menor ocorrência foi conhecida pela série vermelha (2%) (KRASIL'NIKOV & EL'-REGISTAN, 1966)

Alimuddin *et al.* (2011) em seu estudo sobre a distribuição da flora dos isolados na Jordânia, relataram que a classe de cor branca foi a mais prevalecente com (43,6%) em solo rizosferico da planta Cajuput, os outros foram representados por todas as classes de cor. As cores das Actinobactérias tem comprimentos de onda geralmente localizadas nas faixas verde e amarelo do espectro o padrão RAL de Cor foi o sistema de cores mais próximo dos materiais biológicos porque muitos dos guias de menor croma que outros sistemas de cores (GOODFELLOW *et al.*, 2012; ROSENBERG *et al.*, 2014).

### **Identificação molecular do isolado *Streptomyces showdoensis***

Análise das sequências de genes de 16S rRNA que mostrou é idêntico ao *Streptomyces showdoensis* (100% de similaridade) com GenBank número de acesso de banco de dados (HQ834290) e, em seguida designado *Streptomyces showdoensis*. O grau de antifúngica atividade varia muito entre as actinobactérias (NURKANTO e JULISTIONO, 2014). Vários pesquisadores já têm relatado atividade antimicrobiana semelhante de actinobactérias contra fungos patogénicos (FIALHO DE OLIVEIRA *et al.*, 2010; SAXENA *et al.*, 2013). Prapagdee *et al.* (2008) encontraram 146 cepas de actinobactérias isoladas de solos da rizosfera de pomares apenas 10 linhagens apresentaram atividade antifúngica.

Khamna *et al.* (2009) de 16 amostras de solo da rizosfera de plantas medicinais foram isolados 396 cepas todas *Streptomyces*, sendo de 27 dos isolados apresentaram atividade antifúngica. Muitas espécies de actinobactéria, particularmente aqueles pertencente ao gênero *Streptomyces*, como são bem conhecidos agentes de biocontrole antifúngicos que inibem vários fungos patogénicos de plantas (FIALHO DE OLIVEIRA *et al.*, 2010; NURKANTO & JULISTIONO, 2014). A atividade antagonista de *Streptomyces* á patógenos

geralmente está relacionado à produção de compostos antifúngicos (YU *et al.*, 2015) e / ou enzimas hidrolíticas extracelulares (KONG *et al.*, 2013; XU *et al.*, 2014).

## CONCLUSÃO

A *Streptomyces showdoensis* possui bioatividade antifúngica e o tempo de aplicação pode influenciar no efeito de crescimento da lesão, demonstrou efeitos inibidores evidentes contra o fungo *C. musae* (MMBF226/12).

## REFERÊNCIAS

- ABU-GHAZALEH, B. M. Inhibition of growth and caseinase production of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* 28 by combination of low pH and NaCl, potassium sorbate or *Thymus vulgaris* extract. **Acta Microbiol Immunol Hung**, [S.I], v. 57, n. 2, p. 95-108, Jun 2010.
- AL-ASKAR, A. A.; KHAIR, W. M. A.; RASHAD, Y. M. In vitro antifungal activity of *Streptomyces spororaveus* RDS28 against some phytopathogenic fungi. **African Journal of Agricultural Research**, [S.I], v. 6, n. 12, p. 2835-2842, Jun 18 2011.
- ALBUQUERQUE, U. P.; DE LIMA ARAUJO, E.; EL-DEIR, A. C.; DE LIMA, A. L.; SOUTO, A.; BEZERRA, B. M.; FERRAZ, E. M.; MARIA XAVIER FREIRE, E.; SAMPAIO, E. V.; LAS-CASAS, F. M.; DE MOURA, G. J.; PEREIRA, G. A.; DE MELO, J. G.; ALVES RAMOS, M.; RODAL, M. J.; SCHIEL, N.; DE LYRA-NEVES, R. M.; ALVES, R. R.; DE AZEVEDO-JUNIOR, S. M.; TELINO JUNIOR, W. R.; SEVERI, W. Caatinga revisited: ecology and conservation of an important seasonal dry forest. **ScientificWorldJournal**, [S.I], v. 2012, p. 205182, 2012.
- ALIMUDDIN, A.; WIDADA, J.; ASMARA, W.; M., M. Antifungal Production of a Strain of Actinomycetes spp Isolated from the Rhizosphere of Cajuput Plant: Selection and Detection of Exhibiting Activity Against Tested Fungi. **Indonesian Journal of Biotechnology**, [S.I], v. 16, n. 1, p. 1-10, 2011.
- ALVINDIA, D. G.; NATSUAKI, K. T. Biocontrol activities of *Bacillus amyloliquefaciens* DGA14 isolated from banana fruit surface against banana crown rot-causing pathogens. **Crop Protection**, [S.I], v. 28, n. 3, p. 236-242, Mar 2009.
- ARASU, M. V.; DURAIPANDIYAN, V.; IGNACIMUTHU, S. Antibacterial and antifungal activities of polyketide metabolite from marine *Streptomyces* sp. AP-123 and its cytotoxic effect. **Chemosphere**, [S.I], v. 90, n. 2, p. 479-487, Jan 2013.
- BENOUGUENI, S.; RANQUE, S.; GACEMI KIRANE, D. A non-polyenic antifungal produced by a *Streptomyces* *yatensis* strain isolated from Mellah Lake in El Kala, North-East of Algeria. **Journal de Mycologie Médicale**, [S.I], v. 25, n. 1, p. 2-10, Mar 2015.

BERG, G.; KRECHEL, A.; DITZ, M.; SIKORA, R. A.; ULRICH, A.; HALLMANN, J. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 51, n. 2, p. 215-229, 1/1/ 2005.

CANOVA, S. P.; PETTA, T.; REYES, L. F.; ZUCCHI, T. D.; MORAES, L. A. B.; MELO, I. S. Characterization of lipopeptides from *Paenibacillus* sp (IIRAC30) suppressing *Rhizoctonia solani*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, [S.I], v. 26, n. 12, p. 2241-2247, Dec 2010.

CAO, L.; QIU, Z.; YOU, J.; TAN, H.; ZHOU, S. Isolation and characterization of endophytic streptomycete antagonists of fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. **FEMS Microbiology Letters**, [S.I], v. 247, n. 2, p. 147-152, 6/15/ 2005.

CHEN, M.; LI, X.; YANG, Q.; CHI, X.; PAN, L.; CHEN, N.; YANG, Z.; WANG, T.; WANG, M.; YU, S. Dynamic succession of soil bacterial community during continuous cropping of peanut (*Arachis hypogaea* L.). **PLoS ONE**, [S.I], v. 9, n. 7, 2014.

CHOWDHARY, A.; KATHURIA, S.; PRAKASH, A.; MEIS, J. F. Correlation of CLSI and EUCAST in-vitro antifungal susceptibility with clinical outcome of patients with AIDS associated cryptococcosis from India. **Mycoses**, [S.I], v. 57, p. 50-50, May 2014.

DA VINHA, F. N. M.; GRAVINA-OLIVEIRA, M. P.; FRANCO, M. N.; MACRAE, A.; BON, E. P. D.; NASCIMENTO, R. P.; COELHO, R. R. R. Cellulase Production by *Streptomyces viridobrunneus* SCPE-09 Using Lignocellulosic Biomass as Inducer Substrate. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [S.I], v. 164, n. 3, p. 256-267, Jun 2011.

DE OLIVEIRA, M. F.; DA SILVA, M. G.; VAN DER SAND, S. T. Anti-phytopathogen potential of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in southern Brazil, and characterization of *Streptomyces* sp. R18(6), a potential biocontrol agent. **Research in Microbiology**, [S.I], v. 161, n. 7, p. 565-72, Sep 2010.

FIALHO DE OLIVEIRA, M.; GERMANO DA SILVA, M.; VAN DER SAND, S. T. Anti-phytopathogen potential of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in southern Brazil, and characterization of *Streptomyces* sp. R18(6), a potential biocontrol agent. **Research in Microbiology**, [S.I], v. 161, n. 7, p. 565-572, 9// 2010.

GANGWAR, M.; KATARIA, H. Diversity, antifungal and plant growth promoting activity of actinomycetes from rhizosphere soils of medicinal plants. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, [S.I], v. 83, n. 12, p. 1289-1294, Dec 2013.

GANGWAR, M.; SINGH, V.; PANDEY, A. K.; TRIPATHI, C. K.; MISHRA, B. N. Purification and characterization of chitinase from *Streptomyces violascens* NRRL B2700. **Indian Journal of Experimental Biology**, [S.I], v. 54, n. 1, p. 64-71, Jan 2016.

GILLIGAN, C. A. Sustainable agriculture and plant diseases: an epidemiological perspective. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S.I], v. 363, n. 1492, p. 741-759, Feb 27 2008.

GOODFELLOW, M.; FIEDLER, H.-P. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics. **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, [S.I], v. 98, n. 2, p. 119-142, Aug 2010.

GOODFELLOW, M.; KÄMPFER, P.; BUSSE, H. J.; TRUJILLO, M. E.; SUZUKI, K. I.; LUDWIG, W.; WHITMAN, W. B. **BERGEY'S MANUAL® OF Systematic Bacteriology; ACTINOBACTERIA**. 5 ed. New York Dordrecht Heidelberg London: 2012. 1-1034 GOVENDER, V.; KORSTEN, L.; SIVAKUMAR, D. Semi-commercial evaluation of *Bacillus licheniformis* to control mango postharvest diseases in South Africa. **Postharvest Biology and Technology**, [S.I], v. 38, n. 1, p. 57-65, Out 2005.

HAWSER, S. P.; BADAL, R. E.; BOUCHILLON, S. K.; HOBAN, D. J.; HSUEH, P. R. Comparison of CLSI 2009, CLSI 2010 and EUCAST cephalosporin clinical breakpoints in recent clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* from the SMART Global Surveillance Study. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S.I], v. 36, n. 3, p. 293-294, Sep 2010.

HOELL, I. A.; DALHUS, B.; HEGGSET, E. B.; ASPMO, S. I.; EIJSINK, V. G. Crystal structure and enzymatic properties of a bacterial family 19 chitinase reveal differences from plant enzymes. **FEBS J**, [S.I], v. 273, n. 21, p. 4889-900, Nov 2006.

ISMET, A. Studies of actinomycetes for biological control of *Colletotrichum musae* pathogen during post harvest anthracnose of banana. **African Journal of Microbiology Research**, [S.I], v. 6, n. 17, p. 1-31, 2012.

JAYASINGHE, B. A. T. D.; PARKINSON, D. Earthworms as the vectors of actinomycetes antagonistic to litter decomposer fungi. **Applied Soil Ecology**, [S.I], v. 43, n. 1, p. 1-10, Sep 2009.

KANG, M. J.; STRAP, J. L.; CRAWFORD, D. L. Isolation and characterization of potent antifungal strains of the *Streptomyces violaceusniger* clade active against *Candida albicans*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 37, n. 1, p. 35-41, Jan 2010.

KAUNAT, H.; BERNHARD, K. Pectin hydrolysis by rhizosphere-specific bacteria and actinomycetes. **Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infektionskr Hyg**, [S.I], v. 123, n. 4, p. 464-466, 1969.

KEFIALEW, Y.; AYALEW, A. Postharvest biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango (*Mangifera indica*). **Postharvest Biology and Technology**, [S.I], v. 50, n. 1, p. 8-11, Out 2008.

KHAMNA, S.; YOKOTA, A.; LUMYONG, S. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, [S.I], v. 25, n. 4, p. 649-655, Apr 2009.

KHANDAN DEZFULLY, N.; GOTTRAVALLI RAMANAYAKA, J. Isolation, Identification and Evaluation of Antimicrobial Activity of *Streptomyces flavogriseus*, strain ACTK2 from Soil Sample of Kodagu, Karnataka State (India). **Jundishapur Journal of Microbiology**, [S.I], v. 8, n. 2, p. e15107, Feb 2015.

KONG, D.; LEE, M. J.; LIN, S.; KIM, E. S. Biosynthesis and pathway engineering of antifungal polyene macrolides in actinomycetes. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 40, n. 6, p. 529-43, Jun 2013.

KRASIL'NIKOV, N. A.; EL'-REGISTAN, G. I. Study of pigments of red-orange actinomycetes. **Mikrobiologija**, [S.I], v. 35, n. 4, p. 581-585, Aug 1966.

KUTOVAYA, O. V.; LEBEDEVA, M. P.; TKHAKAKHOVA, A. K.; IVANOVA, E. A.; ANDRONOV, E. E. Metagenomic characterization of biodiversity in the extremely arid desert soils of Kazakhstan. **Eurasian Soil Science**, [S.I], v. 48, n. 5, p. 493-500, May 2015.

LAHOUUM, A.; AOUCHE, A.; BOURAS, N.; VERHEECKE, C.; KLENK, H. P.; SABAOU, N.; MATHIEU, F. Antifungal activity of a Saharan strain of *Actinomadura* sp. ACD1 against toxigenic fungi and other pathogenic microorganisms. **Journal de Mycologie Médicale**, [S.I], p. 1-8, Mar 17 2016.

LANCONI, M. D.; TAKETANI, R. G.; KAVAMURA, V. N.; DE MELO, I. S. Microbial community biogeographic patterns in the rhizosphere of two Brazilian semi-arid leguminous trees. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 29, n. 7, p. 1233-1241, Jul 2013.

LEE, J. Y.; HWANG, B. K. Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. **Canadian Journal of Microbiology**, [S.I], v. 48, n. 5, p. 407-417, May 2002.  
LI, Q.; NING, P.; ZHENG, L.; HUANG, J.; LI, G.; HSIANG, T. Fumigant activity of volatiles of *Streptomyces globisporus* JK-1 against *Penicillium italicum* on *Citrus microcarpa*. **Postharvest Biology and Technology**, [S.I], v. 58, n. 2, p. 157-165, 2010.

LU, D.; MA, Z.; XU, X.; YU, X. Isolation and identification of biocontrol agent *Streptomyces rimosus* M527 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. **Journal of Basic Microbiology**, [S.I], May 18 2016.

LUIS, D. P. S.; CAROLINA, P.; MARCELA, F. C. Screening phosphate solubilizing actinobacteria isolated from the rhizosphere of wild plants from the Eastern Cordillera of the Colombian Andes. **African Journal of Microbiology Research**, [S.I], v. 8, n. 8, p. 734-742, 2014.

MANIVASAGAN, P.; VENKATESAN, J.; SIVAKUMAR, K.; KIM, S.-K. Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. **Microbiological Research**, [S.I], v. 169, n. 4, p. 262-278, April 2014.

MANIVASAGAN, P.; VENKATESAN, J.; SIVAKUMAR, K.; KIM, S. K. Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. **Microbiological Research**, v. 169, n. 4, p. 262-278, Apr 2014.

MARI, M.; BERTOLINI, P.; PRATELLA, G. C. Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases. **Journal of Applied Microbiology**, [S.I], v. 94, n. 5, p. 761-766, 2003.

MARTINEZ-ROJAS, E.; KURT, T.; SCHMIDT, U.; MEYER, V.; GARBE, L. A. A bifunctional enzyme from *Rhodococcus erythropolis* exhibiting secondary alcohol dehydrogenase-catalase activities. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 98, n. 22, p. 9249-9258, Nov 2014.

MENEZES, R. S.; SAMPAIO, E. V.; GONGO, V.; PEREZ-MARIN, A. M. Biogeochemical cycling in terrestrial ecosystems of the Caatinga Biome. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos SP, v. 72, n. 3 Suppl, p. 643-53, Aug 2012.

NESSNER KAVAMURA, V.; TAKETANI, R. G.; LANCONI, M. D.; ANDREOTE, F. D.; MENDES, R.; SOARES DE MELO, I. Water regime influences bulk soil and Rhizosphere of *Cereus jamacaru* bacterial communities in the Brazilian Caatinga biome. **PLoS One**, [S.I], v. 8, n. 9, p. e73606, 2013.

NGUYEN-THI, N.; DOUCET, N. Combining chitinase C and N-acetylhexosaminidase from *Streptomyces coelicolor* A3(2) provides an efficient way to synthesize N-acetylglucosamine from crystalline chitin. **Journal of Biotechnology**, [S.I], v. 220, p. 25-32, Feb 20 2016.

NURKANTO, A.; JULISTIONO, H. Screening and study of antifungal activity of leaf litter actinomycetes isolated from Ternate Island, Indonesia. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [S.I], v. 7, Supplement 1, p. S238-S243, Sep 2014.

OKIGBO, R. N. Mycoflora of tuber surface of white yam (*Dioscorea rotundata* Poir) and postharvest control of pathogens with *Bacillus subtilis*. **Mycopathologia**, [S.I] v. 156, n. 2, p. 81-85, 2003.

PACCHIONI, R. G.; CARVALHO, F. M.; THOMPSON, C. E.; FAUSTINO, A. L.; NICOLINI, F.; PEREIRA, T. S.; SILVA, R. C.; CANTAO, M. E.; GERBER, A.; VASCONCELOS, A. T.; AGNEZ-LIMA, L. F. Taxonomic and functional profiles of soil samples from Atlantic forest and Caatinga biomes in northeastern Brazil. **Microbiologyopen**, [S.I], v. 3, n. 3, p. 299-315, Jun 2014.

PASSARI, A. K.; MISHRA, V. K.; GUPTA, V. K.; YADAV, M. K.; SAIKIA, R.; SINGH, B. P. In Vitro and In Vivo Plant Growth Promoting Activities and DNA Fingerprinting of Antagonistic Endophytic Actinomycetes Associates with Medicinal Plants. **Plos One**, [S.I], v. 10, n. 1, p.1-18, Sep 2015.

PEMILA EDITH CHITRASELVI, R.; KALIDASS, S.; KANT, R. Efficiency of rhizosphere bacteria in production of indole acetic acid, siderophore and phosphate solubilization. **International Journal of ChemTech Research**, [S.I], v. 7, n. 6, p. 2557-2564, 2015.

PHUAKJAIPHAEO, C.; CHANG, C. I.; RUANGWONG, O.; KUNASAKDAKUL, K. Isolation and identification of an antifungal compound from endophytic *Streptomyces* sp. CEN26 active against *Alternaria brassicicola*. **Letters in Applied Microbiology**, [S.I], v. 63 n.1, p. 38-44, May 2016.

POSTOLAKY, O.; SYRBU, T.; POIRAS, N.; BALTSAT, K.; MASLOBROD, S.; BOORTSEVA, S. Streptomycetes and micromycetes as perspective antagonists of fungal phytopathogens. **Communications in agricultural and applied biological sciences**, [S.I], v. 77, n. 3, p. 249-257, 2012.

PRAPAGDEE, B.; KUEKULVONG, C.; MONGKOLSUK, S. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. **International Journal of Biological Sciences**, [S.I], v. 4, n. 5, p. 330-337, 2008.

ROSENBERG, E.; DELONG, E. F.; LORY, S.; STACKEBRANDT, E.; THOMPSON, F. **The prokaryotes: Actinobacteria**. 2014. p. 1-1061

SAHU, M. K.; SIVAKUMAR, K.; THANGARADJOU, T.; KANNAN, L. Phosphate solubilizing actinomycetes in the estuarine environment: an inventory. **Journal of Environmental Biology**, [S.I], v. 28, n. 4, p. 795-798, Oct 2007.

SAXENA, A.; UPADHYAY, R.; KUMAR, D.; KANGO, N. Isolation, antifungal activity and characterization of soil actinomycetes. **Journal of Scientific & Industrial Research**, [S.I], v. 72, n. 8, p. 491-497, Aug 2013.

SELVAMEENAL, L.; RADHAKRISHNAN, M.; BALAGURUNATHAN, R. Antibiotic pigment from desert soil actinomycetes; biological activity, purification and chemical screening. **Indian Journal of Pharmaceutical Science**, [S.I], v. 71, n. 5, p. 499-504, Sep 2009.

SHIRLING, E. B. Studies on relationships between actinophage and variation in *Streptomyces*. I. Morphology of phage production and lysis in a streptomycete carrying a temperate phage. **Virology**, [S.I], v. 2, n. 2, p. 272-283, Apr 1956.

SILVA-LACERDA, G. R.; SANTANA, R. C.; VICALVI-COSTA, M. C.; SOLIDONIO, E. G.; SENA, K. X.; LIMA, G. M.; ARAUJO, J. M. Antimicrobial potential of actinobacteria isolated from the rhizosphere of the Caatinga biome plant *Caesalpinia pyramidalis* Tul. **Genetics and Molecular Research**, [S.I], v. 15, n. 1, p. 1-31 2016.

SOARES, F. L., JR.; MELO, I. S.; DIAS, A. C.; ANDREOTE, F. D. Cellulolytic bacteria from soils in harsh environments. **World J Microbiol Biotechnol**, [S.I], v. 28, n. 5, p. 2195-2203, May 2012.

SOARES JUNIOR, F. L.; DIAS, A. C.; FASANELLA, C. C.; TAKETANI, R. G.; DE SOUZA LIMA, A. O.; MELO, I. S.; ANDREOTE, F. D. Endo- and exoglucanase activities in bacteria from mangrove sediment. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 969-976, 2013.

SONAWANE, R. B.; DEOKAR, C. D.; CHIMOTE, V. P. Characterization of *Streptomyces* sp from soils of Maharashtra on the basis of their morphology, functional efficiency and molecular divergence. **Research Journal of Biotechnology**, [S.I], v. 11, n. 1, p. 18-29, Jan 2016.

SRIYAPAI, P.; KAWAI, F.; SIRIPOKE, S.; CHANSIRI, K.; SRIYAPAI, T. Cloning, Expression and Characterization of a Thermostable Esterase HydS14 from *Actinomadura* sp. Strain S14 in *Pichia pastoris*. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.I], v. 16, n. 6, p. 13579-13594, 2015.

STOLPNIK, V. G.; SOLOV'EVA IU, V.; SHILOVA IU, G. Culture-morphological and physiological properties of Actinomycetes no. 128--producer of antibiotic neothelomycin from the group of polypeptides. **Antibiotiki**, [S.I], v. 13, n. 7, p. 621-630, Jul 1968.

TAKETANI, R. G.; KAVAMURA, V. N.; MENDES, R.; MELO, I. S. Functional congruence of rhizosphere microbial communities associated to leguminous tree from Brazilian semiarid region. **Environmental Microbiology Reports**, [S.I], v. 7, n. 1, p. 95-101, Feb 2015.

THI, Q. V.; TRAN, V. H.; MAIA, H. D.; LE, C. V.; HONG MLE, T.; MURPHY, B. T.; CHAU, V. M.; PHAM, V. C. Antimicrobial Metabolites from a Marine-Derived Actinomycete in Vietnam's East Sea. **Natural Product Communications**, [S.I], v. 11, n. 1, p. 49-51, Jan 2016.

VISWANATH, N. R.; PATIL, R. B.; RANGASWAMI, G. Dehydrogenase activity and microbial population in a red sandy soil amended and unamended with incubation. **Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infektionskr Hyg**, [S.I], v. 132, n. 4, p. 335-9, 1977.

XU, D. B.; YE, W. W.; HAN, Y.; DENG, Z. X.; HONG, K. Natural products from mangrove actinomycetes. **Marine Drugs**, [S.I], v. 12, n. 5, p. 2590-2613, May 2014.

YASIR, M.; ASLAM, Z.; KIM, S. W.; LEE, S. W.; JEON, C. O.; CHUNG, Y. R. Bacterial community composition and chitinase gene diversity of vermicompost with antifungal activity. **Bioresource Technology**, [S.I], v. 100, n. 19, p. 4396-4403, Oct 2009.

YU, J.; ZHANG, L.; LIU, Q.; QI, X.; JI, Y.; KIM, B. S. Isolation and characterization of actinobacteria from Yalujiang coastal wetland, North China. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Hainan Medical University, v. 5, n. 7, p. 555-560, Ago 2015.

ZAKALIUKINA IU, V.; ZENOVA, G. M.; ZVIAGINTSEV, D. G. [Growth and morphological differentiation of acidophilic and neutrophilic soil streptomyces]. **Mikrobiologiya**, [S.I], v. 73, n. 1, p. 89-93, Feb 2004.

ZANI, C.; RESTIVO, F. M.; CARCELLI, M.; FERETTI, D.; PELOSI, G.; ROGOLINO, D.; DEGOLA, F.; GALATI, S.; BISCEGLIE, F.; BUSCHINI, A. A Biotechnological Approach for the Development of New Antifungal Compounds to Protect the Environment and the Human Health. **Journal of Public Health Research**, [S.I], v. 4, n. 613, p. 185-189, Nov 17 2015.

ZHANG, N.; SUN, C.; SONG, Z.; GUO, H.; ZHANG, B.; QIU, N.; LIU, X. Isolation, purification and characterization of antifungal substances from Streptomyces hygroscopicus BS-112. **Wei Sheng Wu Xue Bao**, [S.I], v. 51, n. 2, p. 224-232, Feb 2011.

ZHANG, Q.; YONG, D.; ZHANG, Y.; SHI, X.; LI, B.; LI, G.; LIANG, W.; WANG, C. Streptomyces rochei A-1 induces resistance and defense-related responses against Botryosphaeria dothidea in apple fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**, [S.I], v. 115, p. 30-37, May 2016.

ZHENG, M.; SHI, J.; SHI, J.; WANG, Q.; LI, Y. Antimicrobial effects of volatiles produced by two antagonistic Bacillus strains on the anthracnose pathogen in postharvest mangos. **Biological Control**, [S.I], v. 65, n. 2, p. 200-206, May 2013.

ZUCCHI, T. D.; BONDA, A. N.; FRANK, S.; KIM, B. Y.; KSHETRIMAYUM, J. D.; GOODFELLOW, M. *Amycolatopsis bartoniae* sp. nov. and *Amycolatopsis bullii* sp. nov., mesophilic actinomycetes isolated from arid Australian soils. **Antonie Van Leeuwenhoek**, [S.I], v. 102, n. 1, p. 91-98, Jun 2012.

## **5 CONCLUSÃO GERAL**

As actinobactérias obtidas do bioma da caatinga tem um potencial um grande de bioprospecção para a agricultura.

## REFERÊNCIAS

- ABD-ELSALAM, K. A.; ROSHDY, S.; AMIN, O. E.; RABANI, M. First morphogenetic identification of the fungal pathogen *Colletotrichum musae* (Phyllachoraceae) from imported bananas in Saudi Arabia. **Genetics and Molecular Research**, [S.I], v. 9, n. 4, p. 2335-2342, 2010.
- ABU-GHAZALEH, B. M. Inhibition of growth and caseinase production of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* 28 by combination of low pH and NaCl, potassium sorbate or *Thymus vulgaris* extract. **Acta Microbiol Immunol Hung**, [S.I], v. 57, n. 2, p. 95-108, Jun 2010.
- AL-ASKAR, A. A.; KHAIR, W. M. A.; RASHAD, Y. M. In vitro antifungal activity of *Streptomyces spororaveus* RDS28 against some phytopathogenic fungi. **African Journal of Agricultural Research**, [S.I], v. 6, n. 12, p. 2835-2842, Jun 18 2011.
- ALBUQUERQUE, U. P.; DE LIMA ARAUJO, E.; EL-DEIR, A. C.; DE LIMA, A. L.; SOUTO, A.; BEZERRA, B. M.; FERRAZ, E. M.; MARIA XAVIER FREIRE, E.; SAMPAIO, E. V.; LAS-CASAS, F. M.; DE MOURA, G. J.; PEREIRA, G. A.; DE MELO, J. G.; ALVES RAMOS, M.; RODAL, M. J.; SCHIEL, N.; DE LYRA-NEVES, R. M.; ALVES, R. R.; DE AZEVEDO-JUNIOR, S. M.; TELINO JUNIOR, W. R.; SEVERI, W. Caatinga revisited: ecology and conservation of an important seasonal dry forest. **ScientificWorldJournal**, [S.I], v. 2012, p. 182-205, 2012.
- ALIMUDDIN, A.; WIDADA, J.; ASMARA, W.; M., M. Antifungal Production of a Strain of Actinomycetes spp Isolated from the Rhizosphere of Cajuput Plant: Selection and Detection of Exhibiting Activity Against Tested Fungi. **Indonesian Journal of Biotechnology**, [S.I], v. 16, n. 1, p. 1-10, 2011.
- ALMEIDA, C. D. C. B. R.; CABRAL, D. L. D.; DE ALMEIDA, C. C. B. R.; DE AMORIM, E. L. C.; DE ARAUJO, J. M.; DE ALBUQUERQUE, U. P. Comparative study of the antimicrobial activity of native and exotic plants from the Caatinga and Atlantic Forest selected through an ethnobotanical survey. **Pharmaceutical Biology**, [S.I], v. 50, n. 2, p. 201-207, Feb 2012.
- ALVINDIA, D. G.; NATSUAKI, K. T. Biocontrol activities of *Bacillus amyloliquefaciens* DGA14 isolated from banana fruit surface against banana crown rot-causing pathogens. **Crop Protection**, [S.I], v. 28, n. 3, p. 236-242, Mar 2009.
- ARA, I.; RIZWANA, H.; AL-OTHMAN, M. R.; BAKIR, M. A. Studies of actinomycetes for biological control of *Colletotrichum musae* pathogen during post harvest anthracnose of banana. **African Journal of Microbiology Research**, [S.I], v. 7, n. 6, p. 3879-3886, May 2012.
- ARASU, M. V.; DURAIPANDIYAN, V.; IGNACIMUTHU, S. Antibacterial and antifungal activities of polyketide metabolite from marine *Streptomyces* sp. AP-123 and its cytotoxic effect. **Chemosphere**, [S.I], v. 90, n. 2, p. 479-487, Jan 2013.

ARVANITOYANNIS, I. S.; MAVROMATIS, A. Banana cultivars, cultivation practices, and physicochemical properties. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 49, n. 2, p. 113-135, Feb 2009.

BAKER, K. F.; COOK, R. J. **Biological control of plant pathogens**. San Francisco:W. H. Freeman, 1974. 433 p.

BARKA, E. A.; VATSA, P.; SANCHEZ, L.; GAVEAU-VAILLANT, N.; JACQUARD, C.; KLENK, H. P.; CLEMENT, C.; OUHDOUCH, Y.; VAN WEZEL, G. P. Taxonomy, Physiology, and Natural Products of Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, [S.l], v. 80, n. 1, p. 1-43, Mar 2016.

BARROS MESQUITA, C.; LEONEL, M.; FRANCO, C. M.; LEONEL, S.; GARCIA, E. L.; DOS SANTOS, T. P. Characterization of banana starches obtained from cultivars grown in Brazil. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S.l], v. 89, p. 632-639, Aug 2016.

BASKARAN, R.; VIJAYAKUMAR, R.; MOHAN, P. M. Enrichment method for the isolation of bioactive actinomycetes from mangrove sediments of Andaman Islands, India. **Malaysian Journal of Microbiology**, [S.l], v. 7, n. 1, p. 32, 2011.

BEERLING, D. J.; BERNER, R. A. Feedbacks and the coevolution of plants and atmospheric CO<sub>2</sub>. **Proceedings of the National Academy of Sciences. USA**. v.102, p.1302-1305, 2005. BELLAMY, A. S. Banana production systems: identification of alternative systems for more sustainable production. **Ambio**, [S.l], v. 42, n. 3, p. 334-343, Apr 2013.

BELLAMY, A. S. Banana production systems: identification of alternative systems for more sustainable production. **Ambio**, [S.l], v. 42, n. 3, p. 334-343, Apr 2013.

BENOUGUENI, S.; RANQUE, S.; GACEMI KIRANE, D. A non-polyenic antifungal produced by a Streptomyces yatensis strain isolated from Mellah Lake in El Kala, North-East of Algeria. **Journal de Mycologie Médicale**, [S.l], v. 25, n. 1, p. 2-10, Mar 2015.

BERG, G.; KRECHEL, A.; DITZ, M.; SIKORA, R. A.; ULRICH, A.; HALLMANN, J. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 51, n. 2, p. 215-229, 1/1/ 2005.

BILYK, O.; LUZHETSKYY, A. Metabolic engineering of natural product biosynthesis in actinobacteria. **Current Opinion in Biotechnology**, [S.l], v. 42, p. 98-107, 12// 2016.

BILYK, O.; LUZHETSKYY, A. Metabolic engineering of natural product biosynthesis in actinobacteria. **Current Opinion in Biotechnology**, [S.l], v. 42, p. 98-107, 12// 2016.

BODELIER, P. L. E. W., A.T G.; BLOM, C.W.P.M. AND LAANBROEK, H.J. . Effects of photoperiod on growth of and denitrification by *Pseudomonas chlororaphis* in the root zone of *Glyceria maxima*, studied in a gnotobiotic microcosm. **Plant and Soil**, [S.l], v. 190, p. 91-103, 1997.

BORA, N. M.; WARD, A. C. The actinobacteria. In: GOLDMAN, E.; GREEN, L. H. (Ed). **Practical handbook of microbiology**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2009, p. 373- 443.

BORA, N. M.; WARD, A. C. The actinobacteria. In: GOLDMAN, E.; GREEN, L. H. (Ed). **Practical handbook of microbiology**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2009, p. 373- 443.

BRESSAN, W.; FIGUEIREDO, J. E. F. **Controle de *Fusarium moniliforme* em sementes de milho por actinomicetos**. Sete Lagoas: EMBRAPA, 2003. 4.p. Comunicado Técnico ISSN 1679-0162. Disponível em: <<http://www.cnpmms.embrapa.br/publicacoes/publica/comuni65.pdf>>. Acesso em: 10 mar. 2008.

CANOVA, S. P.; PETTA, T.; REYES, L. F.; ZUCCHI, T. D.; MORAES, L. A. B.; MELO, I. S. Characterization of lipopeptides from Paenibacillus sp (IIRAC30) suppressing Rhizoctonia solani. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, [S.I], v. 26, n. 12, p. 2241-2247, Dec 2010.

CAO, L.; QIU, Z.; YOU, J.; TAN, H.; ZHOU, S. Isolation and characterization of endophytic streptomycete antagonists of fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. **FEMS Microbiology Letters**, [S.I], v. 247, n. 2, p. 147-152, 6/15/ 2005.

CAO, L.; QIU, Z.; YOU, J.; TAN, H.; ZHOU, S. Isolation and characterization of endophytic streptomycete antagonists of fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. **FEMS Microbiology Letters**, [S.I], v. 247, n. 2, p. 147-152, Jun 2005.

**CARRER, R. F. Actinomicetos como agentes de bioncontrole de doenças e como promotores de crescimento do tomateiro.** 2002. 78 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) -Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

**CARRER, R. F. Actinomicetos como agentes de bioncontrole de doenças e como promotores de crescimento do tomateiro.** 2002. 78 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) -Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2002.

CHEAH, Y. K.; LEE, L. H.; CHIENG, C. Y. C.; WONG, V. L. C. M. Isolation, identification and screening of Actinobacteria in volcanic soil of Deception Island (the Antarctic) for antimicrobial metabolites. **Polish Polar Research**, [S.I], v. 36, n. 1, p. 67-78, 2015.

CHEAH, Y. K.; LEE, L. H.; CHIENG, C. Y. C.; WONG, V. L. C. M. Isolation, identification and screening of Actinobacteria in volcanic soil of Deception Island (the Antarctic) for antimicrobial metabolites. **Polish Polar Research**, [S.I], v. 36, n. 1, p. 67-78, 2015.

CHEN, M.; LI, X.; YANG, Q.; CHI, X.; PAN, L.; CHEN, N.; YANG, Z.; WANG, T.; WANG, M.; YU, S. Dynamic succession of soil bacterial community during continuous cropping of peanut (*Arachis hypogaea* L.). **PLoS ONE**, [S.I], v. 9, n. 7, 2014.

CHO, S. S.; CHOI, Y. H.; SIMKHADA, J. R.; MANDER, P.; PARK, D. J.; YOO, J. C. A newly isolated Streptomyces sp. CS392 producing three antimicrobial compounds. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [S.I], v. 35, n. 1-2, p. 247-254, Jan 2012.

CHO, S. S.; CHOI, Y. H.; SIMKHADA, J. R.; MANDER, P.; PARK, D. J.; YOO, J. C. A newly isolated Streptomyces sp. CS392 producing three antimicrobial compounds. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, [S.I], v. 35, n. 1-2, p. 247-254, Jan 2012.

CHOWDHARY, A.; KATHURIA, S.; PRAKASH, A.; MEIS, J. F. Correlation of CLSI and EUCAST in-vitro antifungal susceptibility with clinical outcome of patients with AIDS associated cryptococcosis from India. **Mycoses**, [S.I], v. 57, p. 50-50, May 2014.

COOMBS, J. T.; MICHELSEN, P. P.; FRANCO, C. M. M. Evaluation of endophytic actinobacteria as antagonists of Gaeumannomyces graminis var. tritici in wheat. **Biological Control**, [S.I], v. 29, n. 3, p. 359-366, Mar 2004.

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**, [S.I], v. 95, Supplement, p. 280-284, Mar 2012.

CUESTA, G.; MORALES, L.; DE LA FUENTE, R. G.; BOTELLA, S.; FORNES, F.; ABAD, M. Identification of actinomycetes with antifungal activity isolated from soil amended with composts. **Current Research Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology**, p. 55-58, 2009.

DA VINHA, F. N. M.; GRAVINA-OLIVEIRA, M. P.; FRANCO, M. N.; MACRAE, A.; BON, E. P. D.; NASCIMENTO, R. P.; COELHO, R. R. R. Cellulase Production by Streptomyces viridobrunneus SCPE-09 Using Lignocellulosic Biomass as Inducer Substrate. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [S.I], v. 164, n. 3, p. 256-267, Jun 2011.

D'AQUINO, S.; SCHIRRA, M.; PALMA, A.; ANGIONI, A.; CABRAS, P.; MIGHELI, Q. Residue levels and effectiveness of pyrimethanil vs imazalil when using heated postharvest dip treatments for control of Penicillium decay on citrus fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.I], v. 54, n. 13, p. 4721-4726, Jun 28 2006.

D'AQUINO, S.; SCHIRRA, M.; PALMA, A.; ANGIONI, A.; CABRAS, P.; MIGHELI, Q. Residue levels and effectiveness of pyrimethanil vs imazalil when using heated postharvest dip treatments for control of Penicillium decay on citrus fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S.I], v. 54, n. 13, p. 4721-4726, Jun 28 2006.

DAS, A.; KHOSLA, C. Biosynthesis of aromatic polyketides in bacteria. **Accounts of Chemical Research**, [S.I], v. 42, n. 5, p. 631-639, May 19 2009.

DE OLIVEIRA, M. F.; DA SILVA, M. G.; VAN DER SAND, S. T. Anti-phytopathogen potential of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in southern Brazil, and characterization of Streptomyces sp. R18(6), a potential biocontrol agent. **Research in Microbiology**, [S.I], v. 161, n. 7, p. 565-72, Sep 2010.

DUBROVA, M. S. Ecophysiological Characteristics of actinomycetes of desert soils of Mongolia. **Izvestiia Akademii Nauk SSSR Seriya Biologicheskaya**, [S.I], v. 3, p. 246-253, May-Jun 2014.

ELLAIAH, P.; RAJU, K. V.; ADINARAYANA, K.; ADINARAYANA, G.; SAISHA, V.; MADHAVI, S.; PREMKUMAR, J. Bioactive actinomycetes from Krishna River sediments of Andhra Pradesh. **Hindustan Antibiot Bull**, [S.I], v. 44, n. 1-4, p. 8-16, Feb-Nov 2002.

ESPINOSA, A.; SOCHA, A. M.; RYKE, E.; ROWLEY, D. C. Antiamoebic properties of the actinomycete metabolites echinomycin A and tirandamycin A. **Parasitology Research**, [S.I], v. 111, n. 6, p. 2473-2477, Dec 2012.

FAISAL, P. M.; PREMA, R.; NAGENDRAN, K.; GANDHI, K.; RAGUCHANDER, T.; PRABAKAR, K. A specific and sensitive method for the detection of *Colletotrichum musae* in banana fruit. **Revista Iberoamericana De Micologia**, Feb 9 2013.

FAOSTAT. **Produção Mundial de Banana**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 05 Abr. 2016.

FAYAD, K. P.; SIMÃO-BEAUNOIR, A.-M.; GAUTHIER, A.; LECLERC, C.; MAMADY, H.; BEAULIEU, C.; BRZEZINSKI, R. Purification and properties of a  $\beta$ -1,6-glucanase from *Streptomyces sp.* EF-14, an actinomycete antagonistic to *Phytophthora spp.* **Applied Microbiology & Biotechnology**, New York, v. 57, p. 117-123, Oct. 2001.

FAYAD, K. P.; SIMÃO-BEAUNOIR, A.-M.; GAUTHIER, A.; LECLERC, C.; MAMADY, H.; BEAULIEU, C.; BRZEZINSKI, R. Purification and properties of a  $\beta$ -1,6-glucanase from *Streptomyces sp.* EF-14, an actinomycete antagonistic to *Phytophthora spp.* **Applied Microbiology & Biotechnology**, New York, v. 57, p. 117-123, Oct. 2001.

FIALHO DE OLIVEIRA, M.; GERMANO DA SILVA, M.; VAN DER SAND, S. T. Anti-phytopathogen potential of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in southern Brazil, and characterization of *Streptomyces sp.* R18(6), a potential biocontrol agent. **Research in Microbiology**, [S.I], v. 161, n. 7, p. 565-572, 9// 2010.

FLARDH, K.; BUTTNER, M. J. Streptomyces morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. **Nature Review Microbiological**, [S.I], v. 7, n. 1, p. 36-49, Jan 2009. GANG, G. H.; CHO, H. J.; KIM, H. S.; KWACK, Y. B.; KWAK, Y. S. Analysis of Fungicide Sensitivity and Genetic Diversity among *Colletotrichum* Species in Sweet Persimmon. **Journal Plant Pathology**, [S.I], v. 31, n. 2, p. 115-122, Jun 2015.

GANG, G. H.; CHO, H. J.; KIM, H. S.; KWACK, Y. B.; KWAK, Y. S. Analysis of Fungicide Sensitivity and Genetic Diversity among *Colletotrichum* Species in Sweet Persimmon. **Journal Plant Pathology**, [S.I], v. 31, n. 2, p. 115-122, Jun 2015.

GANGWAR, M.; KATARIA, H. Diversity, antifungal and plant growth promoting activity of actinomycetes from rhizosphere soils of medicinal plants. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, [S.I], v. 83, n. 12, p. 1289-1294, Dec 2013.

GANGWAR, M.; SINGH, V.; PANDEY, A. K.; TRIPATHI, C. K.; MISHRA, B. N. Purification and characterization of chitinase from *Streptomyces violascens* NRRL B2700. **Indian Journal of Experimental Biology**, [S.I], v. 54, n. 1, p. 64-71, Jan 2016.

GIL, S. V.; PEDELINI, R.; ODDINO, C.; ZUZA, M.; MARINELLI, A.; MARCH, G. J. The role of potential biocontrol agents in the management of peanut root rot in Argentina. **Journal Plant Pathology**, [S.I], v.90, p.35-41, 2008.

GIL, S. V.; PEDELINI, R.; ODDINO, C.; ZUZA, M.; MARINELLI, A.; MARCH, G. J. The role of potential biocontrol agents in the management of peanut root rot in Argentina. **Journal Plant Pathology**, [S.I], v.90, p.35-41, 2008.

GILLIGAN, C. A. Sustainable agriculture and plant diseases: an epidemiological perspective. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, [S.I], v. 363, n. 1492, p. 741-759, Feb 27 2008.

GOLINSKA, P.; WANG, D.; GOODFELLOW, M. Nocardia aciditolerans sp. nov., isolated from a spruce forest soil. **Antonie Van Leeuwenhoek**, [S.I], v. 103, n. 5, p. 1079-1088, May 2013.

GOMES, R. C.; SEMÊDO, L. T. A. S.; SOARES, R. M. A.; ALVIANO, C. S.; LINHARES, L. F.; COELHO, R. R. R. Chitinolytic activity of actinomycetes from a cerrado soil and their potential in biocontrol. **Letters in Applied Microbiology**, Oxford, v. 30, n. 2, p. 146-150, 2000.

GONZALEZ-FRANCO, A. C.; DEOBALD, L. A.; SPIVAK, A.; CRAWFORD, D. L. Actinobacterial chitinase-like enzymes: profiles of rhizosphere versus non-rhizosphere isolates. **Canadian Journal of Microbiology**, [S.I], v. 49, n. 11, p. 683-698, Nov 2003.

GOODFELLOW, M.; FIEDLER, H.-P. A guide to successful bioprospecting: informed by actinobacterial systematics. **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, [S.I], v. 98, n. 2, p. 119-142, Aug 2010.

GOODFELLOW, M.; KÄMPFER, P.; BUSSE, H.-J.; TRUJILLO, M. E.; SUZUKI, K.-I.; LUDWIG, W.; B., W. W. **Bergey'S Manual® of Systematic Bacteriology Second Edition The Actinobacteria**. New York Dordrecht Heidelberg London: 2012. 2015p.

GORLACH-LIRA, K.; COUTINHO, H. D. M. Population dynamics and extracellular enzymes activity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from semiarid soil of northeastern Brazil. **Brazilian Journal of microbiology**, [S.I], v. 38, p. 135-141, 2007.

GOVENDER, V.; KORSTEN, L.; SIVAKUMAR, D. Semi-commercial evaluation of *Bacillus licheniformis* to control mango postharvest diseases in South Africa. **Postharvest Biology and Technology**, [S.I], v. 38, n. 1, p. 57-65, Out 2005.

GREGERSEN, T. Rapid Method for Distinction of Gram-Negative from Gram-Positive Bacteria. **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 5, n. 2, p. 123-127, 1978.

GRISHKO, V. N.; SYSHCHIKOVA, O. V.; ZENOVA, G. M.; KOZHEVIN, P. A.; DUBROVA, M. S.; LUBSANOVA, D. A.; CHERNOV, I. Y. Mycelial actinobacteria in salt-affected soils of arid territories of Ukraine and Russia. **Eurasian Soil Science**, [S.I], v. 48, n. 1, p. 72-76, Jan 2015.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Methods for detection and characterization of lipases: A comprehensive review. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 6, p. 782-98, Dec 2009.

HAWSER, S. P.; BADAL, R. E.; BOUCHILLON, S. K.; HOBAN, D. J.; HSUEH, P. R. Comparison of CLSI 2009, CLSI 2010 and EUCAST cephalosporin clinical breakpoints in recent clinical isolates of Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae and Klebsiella oxytoca from the SMART Global Surveillance Study. **International Journal of Antimicrobial Agents**, [S.I], v. 36, n. 3, p. 293-294, Sep 2010.

HAYAKAWA, M.; OTOGURO, M.; TAKEUCHI, T.; YAMAZAKI, T.; IIMURA, Y. Application of a method incorporating differential centrifugation for selective isolation of motile actinomycetes in soil and plant litter. **Antonie Van Leeuwenhoek**, [S.I], v. 78, n. 2, p. 171-185, Aug 2000.

HAYAKAWA, M.; YOSHIDA, Y.; IIMURA, Y. Selective isolation of bioactive soil actinomycetes belonging to the Streptomyces violaceusniger phenotypic cluster. **Journal of Applied Microbiology**, [S.I], v. 96, n. 5, p. 973-981, 2004.

HIGGINBOTHAM, S. J.; MURPHY, C. D. Identification and characterisation of a Streptomyces sp. isolate exhibiting activity against methicillin-resistant Staphylococcus aureus. **Microbiological Research**, [S.I], v. 165, n. 1, p. 82-6, 2010.

HOELL, I. A.; DALHUS, B.; HEGGSET, E. B.; ASPMO, S. I.; EIJSINK, V. G. Crystal structure and enzymatic properties of a bacterial family 19 chitinase reveal differences from plant enzymes. **FEBS J**, [S.I], v. 273, n. 21, p. 4889-900, Nov 2006.

HUTALLE-SCHMELZER, K. M. L.; ZWIRNMANN, E.; KRUGER, A.; GROSSART, H. P. Enrichment and cultivation of pelagic bacteria from a humic lake using phenol and humic matter additions. **Fems Microbiology Ecology**, [S.I], v. 72, n. 1, p. 58-73, Apr 2010.

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis **Ecossistemas brasileiros: Caatinga**. 2012. Disponível em:  
<http://www.ibama.gov.br/ecossistemas/caatinga.htm> Acesso em: 09 de Agosto 2013.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola**, v.29, n.2, p. 1-93, 2016.

ISMET, A. Studies of actinomycetes for biological control of Colletotrichum musae pathogen during post harvest anthracnose of banana. **African Journal of Microbiology Research**, [S.I], v. 6, n. 17, p. 1-31, 2012.

ISMET, A. Studies of actinomycetes for biological control of Colletotrichum musae pathogen during post harvest anthracnose of banana. **African Journal of Microbiology Research**, [S.I], v. 6, n. 17, p. 3879-3886, 2012.

ISTIANTO, Y.; SETYO ADJI KOESOEMOWIDODO, R.; WATANABE, Y.; PRANAMUDA, H.; MARWOTO, B. Application of Phenol Pretreatment for the Isolation of Rare Actinomycetes from Indonesian Soil. **Microbiology Indonesia**, [S.I], v. 6, n. 1, p. 42-47, 2012.

- JAYASINGHE, B. A. T. D.; PARKINSON, D. Actinomycetes as antagonists of litter decomposer fungi. **Applied Soil Ecology**, [S.I], v. 38, n. 2, p. 109-118, Fev 2008.
- JAYASINGHE, B. A. T. D.; PARKINSON, D. Earthworms as the vectors of actinomycetes antagonistic to litter decomposer fungi. **Applied Soil Ecology**, [S.I], v. 43, n. 1, p. 1-10, Sep 2009.
- JIANG, Y.; CHEN, X.; CAO, Y.; REN, Z. Diversity of Cultivable Actinomycetes in Tropical Rainy Forest of Xishuangbanna, China. **Open Journal of Soil Science**, [S.I], v. 03, n. 01, p. 9-14, 2013.
- JUNIOR, W. S.; LADIO, A. H.; ALBUQUERQUE, U. P. Resilience and adaptation in the use of medicinal plants with suspected anti-inflammatory activity in the Brazilian Northeast. **Journal of Ethnopharmacology**, [S.I], v. 138, n. 1, p. 238-252, Oct 2011.
- KANG, M. J.; STRAP, J. L.; CRAWFORD, D. L. Isolation and characterization of potent antifungal strains of the Streptomyces violaceusniger clade active against Candida albicans. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 37, n. 1, p. 35-41, Jan 2010.
- KAUNAT, H.; BERNHARD, K. Pectin hydrolysis by rhizosphere-specific bacteria and actinomycetes. **Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infektionskr Hyg**, [S.I], v. 123, n. 4, p. 464-466, 1969.
- KAVITHA, A.; PRABHAKAR, P.; NARASIMHULU, M.; VIJAYALAKSHMI, M.; VENKATESWARLU, Y.; RAO, K. V.; RAJU, V. B. Isolation, characterization and biological evaluation of bioactive metabolites from Nocardia levis MK-VL 113. **Microbiolical Research**, [S.I], v. 165, n. 3, p. 199-210, Mar 31 2010.
- KEFIALEW, Y.; AYALEW, A. Postharvest biological control of anthracnose (*Colletotrichum gloeosporioides*) on mango (*Mangifera indica*). **Postharvest Biology and Technology**, [S.I], v. 50, n. 1, p. 8-11, Out 2008.
- KEIKHA, N.; AYATOLLAHI MOUSAVI, S. A.; NAKHAEI, A. R.; YADEGARI, M. H.; SHAHIDI BONJAR, G. H.; AMIRI, S. In Vitro Evaluation of Enzymatic and Antifungal Activities of Soil-Actinomycetes Isolates and Their Molecular Identification by PCR. **Jundishapur Journal of Microbiology**, [S.I], v. 8, n. 5, p. e14874, May 2015.
- KEIKHA, N.; AYATOLLAHI MOUSAVI, S. A.; NAKHAEI, A. R.; YADEGARI, M. H.; SHAHIDI BONJAR, G. H.; AMIRI, S. In Vitro Evaluation of Enzymatic and Antifungal Activities of Soil-Actinomycetes Isolates and Their Molecular Identification by PCR. **Jundishapur Journal of Microbiology**, [S.I], v. 8, n. 5, p. e14874, May 2015.
- KHALIL, S.; ALSANIUS, B. W. Biochemical characterization of biocontrol agents used for control of root pathogens. **Communications in agricultural and applied biological sciences**, [S.I], v. 71, n. 3, p. 979-984, 2006.
- KHAMNA, S.; YOKOTA, A.; LUMYONG, S. Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, [S.I], v. 25, n. 4, p. 649-655, Apr 2009.

KHANDAN DEZFULLY, N.; GOTTRAVALLI RAMANAYAKA, J. Isolation, Identification and Evaluation of Antimicrobial Activity of *Streptomyces flavogriseus*, strain ACTK2 from Soil Sample of Kodagu, Karnataka State (India). **Jundishapur Journal of Microbiology**, [S.I], v. 8, n. 2, p. e15107, Feb 2015.

KONG, D.; LEE, M. J.; LIN, S.; KIM, E. S. Biosynthesis and pathway engineering of antifungal polyene macrolides in actinomycetes. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 40, n. 6, p. 529-43, Jun 2013.

KRASIL'NIKOV, N. A.; EL'-REGISTAN, G. I. Study of pigments of red-orange actinomycetes. **Mikrobiologija**, [S.I], v. 35, n. 4, p. 581-585, Aug 1966.

KURAPOVA, A. I.; ZENOVA, G. M.; SUDNITSYN, II; KIZILOVA, A. K.; MANUCHAROVA, N. A.; NOROVSUREN, Z.; ZVIAGINTSEV, D. G. Thermotolerant and thermophilic soil Actinomycetes from desert steppes of Mongolia. **Mikrobiologija**, [S.I], v. 81, n. 1, p. 105-116, Jan-Feb 2012.

KUTOVAYA, O. V.; LEBEDEVA, M. P.; TKHAKAKHOVA, A. K.; IVANOVA, E. A.; ANDRONOV, E. E. Metagenomic characterization of biodiversity in the extremely arid desert soils of Kazakhstan. **Eurasian Soil Science**, [S.I], v. 48, n. 5, p. 493-500, May 2015.

LAHOUM, A.; AOUCHE, A.; BOURAS, N.; VERHEECKE, C.; KLENK, H. P.; SABAOU, N.; MATHIEU, F. Antifungal activity of a Saharan strain of *Actinomadura* sp. ACD1 against toxigenic fungi and other pathogenic microorganisms. **Journal de Mycologie Médicale**, [S.I], p. 1-8, Mar 17 2016.

LAHOUM, A.; AOUCHE, A.; BOURAS, N.; VERHEECKE, C.; KLENK, H. P.; SABAOU, N.; MATHIEU, F. Antifungal activity of a Saharan strain of *Actinomadura* sp. ACD1 against toxigenic fungi and other pathogenic microorganisms. **Journal de Mycologie Médicale**, [S.I], p. 1-8, Mar 17 2016.

LANCONI, M. D.; TAKETANI, R. G.; KAVAMURA, V. N.; DE MELO, I. S. Microbial community biogeographic patterns in the rhizosphere of two Brazilian semi-arid leguminous trees. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 29, n. 7, p. 1233-1241, Jul 2013.

LANCONI, M. D.; TAKETANI, R. G.; KAVAMURA, V. N.; DE MELO, I. S. Microbial community biogeographic patterns in the rhizosphere of two Brazilian semi-arid leguminous trees. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 29, n. 7, p. 1233-1241, Jul 2013.

LEE, J. Y.; HWANG, B. K. Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. **Canadian Journal of Microbiology**, [S.I], v. 48, n. 5, p. 407-417, May 2002.

LI, Q.; JIANG, Y.; NING, P.; ZHENG, L.; HUANG, J.; LI, G.; JIANG, D.; HSIANG, T. Suppression of Magnaporthe oryzae by culture filtrates of *Streptomyces globisporus* JK-1. **Biological Control**, [S.I], v. 58, n. 2, p. 139-148, 2011.

LI, Q.; NING, P.; ZHENG, L.; HUANG, J.; LI, G.; HSIANG, T. Fumigant activity of volatiles of *Streptomyces globisporus* JK-1 against *Penicillium italicum* on *Citrus microcarpa*. **Postharvest Biology and Technology**, [S.l], v. 58, n. 2, p. 157-165, Nov 2010.

LIN, L.; TAN, Y.; CHEN, F.; ZHOU, H.; WANG, Y.; HE, W.; WANG, Y. Diversity of culturable actinomycetes in sea deposit of Tiger beach at Bohai Bay, Dalian, China. **Wei Sheng Wu Xue Bao**, [S.l], v. 51, n. 2, p. 262-269, Feb 2011.

LIN, L.; TAN, Y.; CHEN, F.; ZHOU, H.; WANG, Y.; HE, W.; WANG, Y. Diversity of culturable actinomycetes in sea deposit of Tiger beach at Bohai Bay, Dalian, China. **Wei Sheng Wu Xue Bao**, [S.l], v. 51, n. 2, p. 262-269, Feb 2011.

LINDERMANN, W. C.; GLOVER, C. R. Nitrogen fixation by legumes. **Cooperative Extension Service - College of Agriculture and home Economics**. Guide A-129, May 2003, 4p.

LU, D.; MA, Z.; XU, X.; YU, X. Isolation and identification of biocontrol agent *Streptomyces rimosus* M527 against *Fusarium oxysporum* f. sp. *cucumerinum*. **Journal of Basic Microbiology**, [S.l], May 18 2016.

LUIS, D. P. S.; CAROLINA, P.; MARCELA, F. C. Screening phosphate solubilizing actinobacteria isolated from the rhizosphere of wild plants from the Eastern Cordillera of the Colombian Andes. **African Journal of Microbiology Research**, [S.l], v. 8, n. 8, p. 734-742, 2014.

MALEK, N. A.; CHOWDHURY, A. J. K.; ZAINUDDIN, Z. A. A., Z. A. Z. . Selective Isolation of Actinomycetes from Mangrove Forest of Pahang, Malaysia. **International Conference on Agriculture, Biology and Environmental Sciences**, [S.l], v.6, n.1, p. 24-31, 2014.

MANIVASAGAN, P.; VENKATESAN, J.; SIVAKUMAR, K.; KIM, S. K. Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. **Microbiological Research**, v. 169, n. 4, p. 262-278, Apr 2014.

MANIVASAGAN, P.; VENKATESAN, J.; SIVAKUMAR, K.; KIM, S.-K. Pharmaceutically active secondary metabolites of marine actinobacteria. **Microbiological Research**, [S.l], v. 169, n. 4, p. 262-278, April 2014.

MARI, M.; BERTOLINI, P.; PRATELLA, G. C. Non-conventional methods for the control of post-harvest pear diseases. **Journal of Applied Microbiology**, [S.l], v. 94, n. 5, p. 761-766, 2003.

MARTINEZ-ROJAS, E.; KURT, T.; SCHMIDT, U.; MEYER, V.; GARBE, L. A. A bifunctional enzyme from *Rhodococcus erythropolis* exhibiting secondary alcohol dehydrogenase-catalase activities. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.l], v. 98, n. 22, p. 9249-9258, Nov 2014.

MELLO, C. M. A.; DA SILVA, I. R.; DE PONTES, J. S.; GOTO, B. T.; DA SILVA, G. A.; MAIA, L. C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in an area of Caatinga, PE, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, Belo Horizonte, v. 26, n. 4, p. 938-943, Oct-Dec 2012.

MENEZES, R. S.; SAMPAIO, E. V.; GONGO, V.; PEREZ-MARIN, A. M. Biogeochemical cycling in terrestrial ecosystems of the Caatinga Biome. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos SP, v. 72, n. 3 Suppl, p. 643-53, Aug 2012.

MINGMA, R.; PATHOM-AREE, W.; TRAKULNALEAMSAI, S.; THAMCHAIPENET, A.; DUANGMAL, K. Isolation of rhizospheric and roots endophytic actinomycetes from Leguminosae plant and their activities to inhibit soybean pathogen, *Xanthomonas campestris* pv. glycine. **World J Microbiol Biotechnol**, [S.I], v. 30, n. 1, p. 271-280, Jan 2014.

NAIKPATIL, S. V.; RATHOD, J. L. Selective isolation and antimicrobial activity of rare actinomycetes from mangrove sediment of Karwar. **Journal of Ecobiotechnology**, [S.I], v.3, p.48-53, Nov 2011.

NESSNER KAVAMURA, V.; TAKETANI, R. G.; LANCONI, M. D.; ANDREOTE, F. D.; MENDES, R.; SOARES DE MELO, I. Water regime influences bulk soil and Rhizosphere of Cereus jamacaru bacterial communities in the Brazilian Caatinga biome. **PLoS One**, [S.I], v. 8, n. 9, p. e73606, 2013.

NEVES, M. C. P.; GAVA, C. A. T. **Actinomicetos no solo**. Universidade Federal de Viçosa (UFV). Viçosa MG, 2008.

NGUYEN-THI, N.; DOUCET, N. Combining chitinase C and N-acetylhexosaminidase from *Streptomyces coelicolor* A3(2) provides an efficient way to synthesize N-acetylglucosamine from crystalline chitin. **Journal of Biotechnology**, [S.I], v. 220, p. 25-32, Feb 2016.

NIYOMVONG, N.; PATHOM-AREE, W.; THAMCHAIPENET, A.; DUANGMAL, K. Actinomycetes from Tropical Limestone Caves. **Chiang Mai Journal of Science**, [S.I], v. 39, n. 3, p. 373-388, Jul 2012.

NURKANTO, A.; JULISTIONO, H. Screening and study of antifungal activity of leaf litter actinomycetes isolated from Ternate Island, Indonesia. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [S.I], v. 7, Supplement 1, p. S238-S243, Sep 2014.

OKIGBO, R. N. Mycoflora of tuber surface of white yam (*Dioscorea rotundata* Poir) and postharvest control of pathogens with *Bacillus subtilis*. **Mycopathologia**, [S.I] v. 156, n. 2, p. 81-85, 2003.

OKORO, C. K.; BROWN, R.; JONES, A. L.; ANDREWS, B. A.; ASENJO, J. A.; GOODFELLOW, M.; BULL, A. T. Diversity of culturable actinomycetes in hyper-arid soils of the Atacama Desert, Chile. **Antonie Van Leeuwenhoek**, [S.I], v. 95, n. 2, p. 121-133, Feb 2009.

PACCHIONI, R. G.; CARVALHO, F. M.; THOMPSON, C. E.; FAUSTINO, A. L.; NICOLINI, F.; PEREIRA, T. S.; SILVA, R. C.; CANTAO, M. E.; GERBER, A.; VASCONCELOS, A. T.; AGNEZ-LIMA, L. F. Taxonomic and functional profiles of soil samples from Atlantic forest and Caatinga biomes in northeastern Brazil. **Microbiologyopen**, [S.I], v. 3, n. 3, p. 299-315, Jun 2014.

PALANIYANDI, S. A.; YANG, S. H.; ZHANG, L.; SUH, J. W. Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 97, n. 22, p. 9621-9636, Nov 2013.

PASSARI, A. K.; MISHRA, V. K.; GUPTA, V. K.; YADAV, M. K.; SAIKIA, R.; SINGH, B. P. In Vitro and In Vivo Plant Growth Promoting Activities and DNA Fingerprinting of Antagonistic Endophytic Actinomycetes Associates with Medicinal Plants. **Plos One**, [S.I], v. 10, n. 1, p.1-18, Sep 2015.

PATHOM-AREE, W.; STACH, J. E. M.; WARD, A. C.; HORIKOSHI, K.; BULL, A. T.; GOODFELLOW, M. Diversity of actinomycetes isolated from Challenger Deep sediment (10.898 m) from the Mariana Trench. **Extremophiles**, [S.I], v. 10, n. 3, p. 181-189, Jun 2006.

PATIL, H. J.; SRIVASTAVA, A. K.; KUMAR, S.; CHAUDHARI, B. L.; ARORA, D. K. Selective isolation, evaluation and characterization of antagonistic actinomycetes against Rhizoctonia solani. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, [S.I], v. 26, n. 12, p. 2163-2170, Dec 2010.

PATIL, H. J.; SRIVASTAVA, A. K.; SINGH, D. P.; CHAUDHARI, B. L.; ARORA, D. K. Actinomycetes mediated biochemical responses in tomato (*Solanum lycopersicum*) enhances bioprotection against Rhizoctonia solani. **Crop Protection**, [S.I], v. 30, n. 10, p. 1269-1273, Out 2011.

PATIL, N. N.; WAGHMODE, M. S.; GAIKWAD, P. S.; GAJBHIYE, M. H.; GUNJAL, A. B.; NAWANI, N. N.; KAPADNIS, B. P. Potential of *Microbispora* sp. V2 as biocontrol agent against *Sclerotium rolfsii*, the causative agent of southern blight of *Zea mays* L (Baby corn)--in vitro studies. **Indian journal of experimental biology**, [S.I], v. 52, n. 11, p. 1147-1151, Nov 2014.

PEMILA EDITH CHITRASELVI, R.; KALIDASS, S.; KANT, R. Efficiency of rhizosphere bacteria in production of indole acetic acid, siderophore and phosphate solubilization. **International Journal of ChemTech Research**, [S.I], v. 7, n. 6, p. 2557-2564, 2015.

PEREIRA, J. C.; NEVES, M. C. P.; DROZDOWICZ, A. Quantification of the Whole Bacteria Population, Antibiotic Resistant Bacteria and Soil Actinomycetes. **EMBRAPA-CNPAB**. Seropédica, RJ, Brazil. 1996. 21p.

PHUAKJAIPHAEO, C.; CHANG, C. I.; RUANGWONG, O.; KUNASAKDAKUL, K. Isolation and identification of an antifungal compound from endophytic *Streptomyces* sp. CEN26 active against *Alternaria brassicicola*. **Letters in Applied Microbiology**, [S.I], v. 63 n.1, p. 38-44, May 2016.

PHUAKJAIPHAEO, C.; CHANG, C. I.; RUANGWONG, O.; KUNASAKDAKUL, K. Isolation and identification of an antifungal compound from endophytic *Streptomyces* sp. CEN26 active against *Alternaria brassicicola*. **Letters in Applied Microbiology**, [S.I], v. 3, n. 1, p. 38-44, May 2016.

POLYANSKAYA, L. M.; OZERSKAYA, S. M.; KOCHKINA, G. A.; IVANUSHKINA, N. E.; GOLOVCHENKO, A. V.; ZVYAGINTSEV, D. G. The Abundance and structure of the

rootassociated microbial complexes of two greenhouse rose cultivars. **Microbiology**, New York, v. 72, n. 4, p.554-562, 2003.

POSTOLAKY, O.; SYRBU, T.; POIRAS, N.; BALTSAT, K.; MASLOBROD, S.; BOORTSEVA, S. Streptomyces and micromycetes as perspective antagonists of fungal phytopathogens. **Communications in agricultural and applied biological sciences**, [S.I], v. 77, n. 3, p. 249-257, 2012.

PRAPAGDEE, B.; KUEKULVONG, C.; MONGKOLSUK, S. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. **International Journal of Biological Sciences**, [S.I], v. 4, n. 5, p. 330-337, 2008.

PRIYADHARSHINI, P.; DHANASEKARAN, D. Diversity of soil Allelopathic Actinobacteria in Tiruchirappalli district, Tamilnadu, India. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, [S.I], v. 14, n. 1, p. 54-60, Jan 2015.

QIN, S.; LI, J.; CHEN, H. H.; ZHAO, G. Z.; ZHU, W. Y.; JIANG, C. L.; XU, L. H.; LI, W. J. Isolation, diversity, and antimicrobial activity of rare actinobacteria from medicinal plants of tropical rain forests in Xishuangbanna, China. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.I], v. 75, n. 19, p. 6176-6186, Oct 2009.

QIN, S.; MIAO, Q.; FENG, W.-W.; WANG, Y.; ZHU, X.; XING, K.; JIANG, J.-H. Biodiversity and plant growth promoting traits of culturable endophytic actinobacteria associated with *Jatropha curcas* L. growing in Panxi dry-hot valley soil. **Applied Soil Ecology**, [S.I], v. 93, p. 47-55, Sep 2015.

QIU, D.; RUAN, J.; HUANG, Y. Selective isolation and rapid identification of members of the genus *Micromonospora*. **Applied and Environmental Microbiology**, [S.I], v. 74, n. 17, p. 5593-5597, Sep 2008.

QUEIROZ, L.P. Flowering plants of the Brazilian Semi-Arid. In: QUEIROZ, L.P.; RAPINI, A.; GIULIETTI, A.M. (Ed.). **Towards greater knowledge of the Brazilian semi-arid biodiversity**. Brasília: Ministério de Ciência e Tecnologia, cap. 6, p. 45-50, 2006.

QUEIROZ, L.P. Flowering plants of the Brazilian Semi-Arid. In: QUEIROZ, L.P.; RAPINI, A.; GIULIETTI, A.M. (Ed.). **Towards greater knowledge of the Brazilian semi-arid biodiversity**. Brasília: Ministério de Ciência e Tecnologia, cap. 6, p. 45-50, 2006.

RAJA, A.; PRABAKARANA, P. Actinomycetes and Drug-An overview. **American Journal of Drug Discovery and development**. [S.I], v.1, n. 2, p. 74-84, 2011.

RAJESH, P. S.; RAVISHANKAR RAI, V. Hydrolytic enzymes and quorum sensing inhibitors from endophytic fungi of *Ventilago madraspatana* Gaertn. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, [S.I], v. 2, n. 2, p. 120-124, April 2013.

ROSENBERG, E.; DELONG, E. F.; LOR, S.; STACKEBRANDT, E.; THOMPSON, F. **The Prokaryotes Actinobacteria Fourth Edition**. Heidelberg New York Dordrecht London: Springer, 2014. 1065p., ISBN 978-3-642-30137-7.

RUTTANASUTJA, P.; PATHOM-AREE, W. Selective Isolation of Cultivable Actinomycetes from Thai Coastal Marine Sediment. **Chiang Mai Journal of Science**, [S.I], v. 42, n. 1, p. 88-103, Jan 2015.

SÁ, I.B.; RICHÉ, G.R.; FOTIUS, G.A. As paisagens e o processo de degradação do semiárido nordestino. In: SILVA, J.M.C.; FONSECA, M.T.; LINS, L.V. (Ed.).

**Biodiversidade da Caatinga:** áreas e ações prioritárias para a conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2003. 17-36 p.

SÁ, I.B.; RICHÉ, G.R.; FOTIUS, G.A. As paisagens e o processo de degradação do semiárido nordestino. In: SILVA, J.M.C.; FONSECA, M.T.; LINS, L.V. (Ed.).

**Biodiversidade da Caatinga:** áreas e ações prioritárias para a conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2003. 17-36 p.

SABARATNAM, S.; TRAQUAIR, J.A. Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of rhizoctonia damping-off in tomato transplants. **Biological Control**, San Diego, v. 23, n. 3, p. 245-253, 2002.

SABARATNAM, S.; TRAQUAIR, J.A. Formulation of a *Streptomyces* biocontrol agent for the suppression of rhizoctonia damping-off in tomato transplants. **Biological Control**, San Diego, v. 23, n. 3, p. 245-253, 2002.

SAHU, M. K.; SIVAKUMAR, K.; THANGARADJOU, T.; KANNAN, L. Phosphate solubilizing actinomycetes in the estuarine environment: an inventory. **Journal of Environmental Biology**, [S.I], v. 28, n. 4, p. 795-798, Oct 2007.

SANTOS, R. M.; OLIVEIRA-FILHO, A. T.; EISENLOHR, P. V.; QUEIROZ, L. P.; CARDOSO, D. B.; RODAL, M. J. Identity and relationships of the Arboreal Caatinga among other floristic units of seasonally dry tropical forests (SDTFs) of north-eastern and Central Brazil. **Ecology and Evolution**, [S.I], v. 2, n. 2, p. 409-428, Feb 2012.

SAXENA, A.; UPADHYAY, R.; KUMAR, D.; KANGO, N. Isolation, antifungal activity and characterization of soil actinomycetes. **Journal of Scientific & Industrial Research**, [S.I], v. 72, n. 8, p. 491-497, Aug 2013.

SCHARFEN, J. Urease as a useful criterion in the classification of microaerophilic actinomycetes. **Zentralbl Bakteriol Orig A**, [S.I], v. 225, n. 1, p. 89-94, Oct 1973.

SELVAMEENAL, L.; RADHAKRISHNAN, M.; BALAGURUNATHAN, R. Antibiotic pigment from desert soil actinomycetes; biological activity, purification and chemical screening. **Indian Journal of Pharmaceutical Science**, [S.I], v. 71, n. 5, p. 499-504, Sep 2009.

SEONG, C. N.; CHOI, J. H.; BAIK, K. S. An improved selective isolation of rare actinomycetes from forest soil. **Journal of Microbiology**, [S.I], v. 39, n. 1, p. 17-23, Mar 2001.

SER, H.-L.; TAN, W.-S.; CHENG, H.-J.; YIN, W.-F.; CHAN, K.-G.; LEE, L.-H. Draft genome of amylolytic actinobacterium, *Sinomonas humi* MUSC 117T isolated from intertidal soil. **Marine Genomics**, [S.I], v. 24, Part 3, p. 209-210, Dez 2015.

SHARMA, S. C. V.; DAVID, E. A comparative study on selected marine actinomycetes from Pulicat, Muttukadu, and Ennore estuaries. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, [S.I], v. 2, n. 3, p. 1827-1834, Dec 2012.

SHIRLING, E. B. Studies on relationships between actinophage and variation in Streptomyces. I. Morphology of phage production and lysis in a streptomycete carrying a temperate phage. **Virology**, [S.I], v. 2, n. 2, p. 272-283, Apr 1956.

SHIROKIKH, I. G.; SHIROKIKH, A. A.; MERZAEVA, O. V.; TUMASOVA, M. I. Actinomycetes in the rhizosphere of red clover on a soddy-podzolic soil. **Eurasian Soil Science**, [S.I], v. 37, n. 7, p. 762-768, Jul 2004.

SILVA, F. DE A. S. E. & AZEVEDO, C. A. V. DE. **A New Version of the Assistat-Statistical Assistance Software. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE**, 4, Orlando-FL-USA: Anais. Orlando: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2006. p.393-396.

SILVA, K. A.; SANTOS, J. M.; ANDRADE, J. R.; LIMA, E. N.; ALBUQUERQUE, U. P.; FERRAZ, E. M.; ARAUJO, E. L. The influence of microhabitat on the population dynamics of four herbaceous species in a semiarid area of northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, São Paulo SP, v. 76, n. 1, p. 45-54, Jan 2016.

SILVA-LACERDA, G. R.; SANTANA, R. C.; VICALVI-COSTA, M. C.; SOLIDONIO, E. G.; SENA, K. X.; LIMA, G. M.; ARAUJO, J. M. Antimicrobial potential of actinobacteria isolated from the rhizosphere of the Caatinga biome plant Caesalpinia pyramidalis Tul. **Genetics and Molecular Research**, [S.I], v. 15, n. 1, p. 1-31 2016.

SILVA-LACERDA, G. R.; SANTANA, R. C.; VICALVI-COSTA, M. C.; SOLIDONIO, E. G.; SENA, K. X.; LIMA, G. M.; ARAUJO, J. M. Antimicrobial potential of actinobacteria isolated from the rhizosphere of the Caatinga biome plant Caesalpinia pyramidalis Tul. **Genetics and Molecular Research**, [S.I], v. 15, n. 1, p. 1-12, 2016.

SINEVA, O. N.; TEREKHOVA, L. P. Selective Isolation of Rare Actinomycetes from Soil. **Antibiot Khimioter**, [S.I], v. 60, n. 7-8, p. 27-33, 2015.

SINGH, S. P.; GAUR, R. Evaluation of antagonistic and plant growth promoting activities of chitinolytic endophytic actinomycetes associated with medicinal plants against Sclerotium rolfsii in chickpea. **Journal of Applied Microbiology**, [S.I], v. 7, n. 6, p. 1-31, May 2016.

SOARES JUNIOR, F. L.; DIAS, A. C.; FASANELLA, C. C.; TAKETANI, R. G.; DE SOUZA LIMA, A. O.; MELO, I. S.; ANDREOTE, F. D. Endo- and exoglucanase activities in bacteria from mangrove sediment. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 969-976, 2013.

SOARES, F. L., JR.; MELO, I. S.; DIAS, A. C.; ANDREOTE, F. D. Cellulolytic bacteria from soils in harsh environments. **World J Microbiol Biotechnol**, [S.I], v. 28, n. 5, p. 2195-2203, May 2012.

SONAWANE, R. B.; DEOKAR, C. D.; CHIMOTE, V. P. Characterization of *Streptomyces* sp from soils of Maharashtra on the basis of their morphology, functional efficiency and molecular divergence. **Research Journal of Biotechnology**, [S.I], v. 11, n. 1, p. 18-29, Jan 2016.

SOUAGUI, Y.; TRITSCH, D.; GROSDEMANGE-BILLIARD, C.; KECHA, M. Optimization of antifungal production by an alkaliphilic and halotolerant actinomycete, *Streptomyces* sp. SY-BS5, using response surface methodology. **Journal de Mycologie Médicale**, [S.I], v. 25, n. 2, p. 108-115, Jun 2015.

SOUSA, C. da S.; SOARES, A.C.F.; GARRIDO, M. da S. Characterization of *streptomycetes* with potencial to promote plant growth and biocontrol. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 65, n. 1, p. 50-55, 2008.

SOUZA, A.; CRUZ, J. C.; SOUSA, N. R.; PROCOPIO, A. R.; SILVA, G. F. Endophytic bacteria from banana cultivars and their antifungal activity. **Genetics and Molecular Research**, [S.I], v. 13, n. 4, p. 8661-8670, 2014.

SPONHOLZ, C.; BATISTA, U. G.; ZAMBOLIM, L.; SALOMÃO, L. C. C.; CARDOSO, A. A. Efeito do tratamento hidrotérmico e químico de frutos de banana 'Prata' no controle da antracnose em pós-colheita. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 5, p. 480-485, 2004.

SREEVIDYA, M.; GOPALAKRISHNAN, S.; KUDAPA, H.; VARSHNEY, R. K. Exploring plant growth-promotion actinomycetes from vermicompost and rhizosphere soil for yield enhancement in chickpea. **Brazilian Journal of Biology**, [S.I], v. 47, n. 1, p. 85-95, Jan-Mar 2016.

SRIVASTAVA, R. B.; UPADHYAY, P. K.; SINHA, S. K. The Effect of In-vitro Temperature on Actinomycetes and their Antibiotic Activity. **Journal of Pure and Applied Microbiology**, [S.I], v. 6, n. 1, p. 509-511, Mar 2012.

SRIYAPAI, P.; KAWAI, F.; SIRIPOKE, S.; CHANSIRI, K.; SRIYAPAI, T. Cloning, Expression and Characterization of a Thermostable Esterase HydS14 from *Actinomadura* sp. Strain S14 in *Pichia pastoris*. **International Journal of Molecular Sciences**, [S.I], v. 16, n. 6, p. 13579-13594, 2015.

STOLPNIK, V. G.; SOLOVEVA IU, V.; SHILOVA IU, G. Culture-morphological and physiological properties of Actinomycetes no. 128--producer of antibiotic neothelomycin from the group of polypeptides. **Antibiotiki**, [S.I], v. 13, n. 7, p. 621-630, Jul 1968.

SUBRAMANI, R.; AALBERSBERG, W. Culturable rare Actinomycetes: diversity, isolation and marine natural product discovery. **Applied Microbiology Biotechnology**, [S.I], v. 97, n. 21, p. 9291-9321, Nov 2013.

SUBRAMANI, R.; MANI, J.; NARAYANASAMY, M. Diversity and antifungal activity of marine actinomycetes. **Journal of Biotechnology**, [S.I], v. 136, Supplement, p. S532, Out 2008.

SUN, J. B.; PENG, M.; WANG, Y. G.; LI, W. B.; XIA, Q. Y. The effects of different disease-resistant cultivars of banana on rhizosphere microbial communities and enzyme activities. **Fems Microbiology Letters**, [S.I], v. 345, n. 2, p. 121-126, Aug 2013.

SUWAN, N.; BOONYING, W.; NALUMPANG, S. Antifungal activity of soil actinomycetes to control chilli anthracnose caused by *Colletotrichum gloeosporioides*. **Journal of Agricultural Technology**, [S.I], v. 8, n. 8, p. 725-737, 2012.

SZYMANSKA, S.; PLOCINICZAK, T.; PIOTROWSKA-SEGET, Z.; ZLOCH, M.; RUPPEL, S.; HRYNKIEWICZ, K. Metabolic potential and community structure of endophytic and rhizosphere bacteria associated with the roots of the halophyte Aster tripolium L. **Microbiological Research**, [S.I], v. 182, p. 68-79, Jan 2016.

TAECHOWISAN, T.; PEBERDY, J.F.; LUMYONG, S. Isolation of endophytic actinomycetes from selected plants and their antifungal activity. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, New York, v.19, n.4, p.381-385, 2003.

TAKETANI, R. G.; KAVAMURA, V. N.; MENDES, R.; MELO, I. S. Functional congruence of rhizosphere microbial communities associated to leguminous tree from Brazilian semiarid region. **Environmental Microbiology Reports**, [S.I], v. 7, n. 1, p. 95-101, Feb 2015.

TAYLOR, L.L.; LEAKE, J.R.; QUIRK, J.; HARDY, K.; BANWARTS, S.A.; BEERLING, D.J. Biological weathering and the long-term carbon cycle: integrating mycorrhizal evolution and function into the current paradigm. **Geobiology**, [S.I], v.7, p.171-191, 2009.

THI, Q. V.; TRAN, V. H.; MAIA, H. D.; LE, C. V.; HONG MLE, T.; MURPHY, B. T.; CHAU, V. M.; PHAM, V. C. Antimicrobial Metabolites from a Marine-Derived Actinomycete in Vietnam's East Sea. **Natural Product Communications**, [S.I], v. 11, n. 1, p. 49-51, Jan 2016.

TIWARI, K.; GUPTA, R. K. Diversity and isolation of rare actinomycetes: an overview. **Critical Reviews in Microbiology**, [S.I], v. 39, n. 3, p. 256-294, Aug 2013.

TOKALA, R.K.; STRAP, J.L.; JUNG, C.M.; CRAWFORD, D.L.; SALOVE, M.H.; DEOBALD, L.A.; BAILEY, J.F.; MORRA, M.J. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the Pea Plant (*Pisum sativum*). **Applied and Environmental Microbiology**, Washington, v. 68, n. 5, p. 2161-2171, 2002.

TROVÃO, D. M. B. M.; FERNANDES, P. D.; ANDRADE, L. A.; DANTAS NETO, J. Variações sazonais de aspectos fisiológicos de espécies da Caatinga. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande RN, v. 11, n. 3, p. 307–311, 2007.

VAN DER VOORT, M.; KEMPENAAR, M.; VAN DRIEL, M.; RAAIJMAKERS, J. M.; MENDES, R. Impact of soil heat on reassembly of bacterial communities in the rhizosphere microbiome and plant disease suppression. **Ecology Letters**, [S.I], v. 19, n. 4, p. 375-382. Feb 2016.

VARALAKSHMI, T.; SEKHAR, K. M.; CHARYULU, P. B. B. Taxonomic studies and phylogenetic characterization of potential and pigmented antibiotic producing actinomycetes isolated from rhizosphere soils. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, [S.I], v. 6, n. 6, p. 511-519, 2014.

- VASCONCELLOS, R. L. F.; SILVA, M. C. P.; RIBEIRO, C. M.; CARDOSO, E. J. B. N. Isolation and screening for plant growth-promoting (PGP) actinobacteria from Araucaria angustifolia rhizosphere soil. **Scientia Agricola, Piracicaba SP**, v. 67, n. 6, p. 743-746, 2010.
- VENTURA, M.; CANCHAYA, C.; TAUCH, A.; CHANDRA, G.; FITZGERALD, G. F.; CHATER, K.F. AND VAN SINDEREN, D. Genomics of Actinobacteria: Tracing the Evolutionary History of an Ancient Phylum. **Microbiology and molecular biology review**, [S.I], v.71, n. 3, p.495-548, Set. 2007.
- VINAY GOPAL, J.; THENMOZHI, M.; KANNABIRAN, K.; RAJAKUMAR, G.; VELAYUTHAM, K.; RAHUMAN, A. A. Actinobacteria mediated synthesis of gold nanoparticles using Streptomyces sp. VITDDK3 and its antifungal activity. **Materials Letters**, [S.I], v. 93, p. 360-362, Jan 2013.
- VISWANATH, N. R.; PATIL, R. B.; RANGASWAMI, G. Dehydrogenase activity and microbial population in a red sandy soil amended and unamended with incubation. **Zentralbl Bakteriol Parasitenkd Infektionskr Hyg**, [S.I], v. 132, n. 4, p. 335-9, 1977.
- WAKSMAN, S. A. Actinomycetes. **Science**, [S.I], v. 127, n. 3304, p. 1003-1004, 1958.
- WOO, J. H.; KAMEI, Y. Antifungal mechanism of an anti-Pythium protein (SAP) from the marine bacterium Streptomyces sp. strain AP77 is specific for Pythium porphyrae, a causative agent of red rot disease in Porphyra spp. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 62, n. 4, p. 407-413, Sep 2003.
- WOO, J. H.; KITAMURA, E.; MYOUGA, H.; KAMEI, Y. An antifungal protein from the marine bacterium streptomyces sp. Strain AP77 is specific for Pythium porphyrae, a causative agent of red rot disease in Porphyra spp. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [S.I], v. 68, n. 6, p. 2666-2675, Jun 2002.
- WU, C.; DU, C.; GUBBENS, J.; CHOI, Y. H.; VAN WEZEL, G. P. Metabolomics-Driven Discovery of a Prenylated Isatin Antibiotic Produced by Streptomyces Species MBT28. **Journal of Natural Products**, [S.I], v. 78, n. 10, p. 2355-2363, Oct 2015.
- XU, B.; CHEN, W.; WU, Z. M.; LONG, Y.; LI, K. T. A Novel and Effective Streptomyces sp. N2 Against Various Phytopathogenic Fungi. **Applied biochemistry and biotechnology**, [S.I], v. 177, n. 6, p. 1338-1347, Nov 2015.
- YAN, Y.; KURAMAE, E. E.; KLINKHAMER, P. G.; VAN VEEN, J. A. Revisiting the dilution procedure used to manipulate microbial biodiversity in terrestrial systems. **Applied Environment Microbiology**, [S.I], v. 81, n. 13, p. 4246-4252, Jul 2015.
- YASIR, M.; ASLAM, Z.; KIM, S. W.; LEE, S. W.; JEON, C. O.; CHUNG, Y. R. Bacterial community composition and chitinase gene diversity of vermicompost with antifungal activity. **Bioresource Technology**, [S.I], v. 100, n. 19, p. 4396-4403, Oct 2009.
- YU, J.; ZHANG, L.; LIU, Q.; QI, X.; JI, Y.; KIM, B. S. Isolation and characterization of actinobacteria from Yalujiang coastal wetland, North China. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, Hainan Medical University, v. 5, n. 7, p. 555-560, Ago 2015.

ZAKALIUKINA IU, V.; ZENOVA, G. M.; ZVIAGINTSEV, D. G. [Growth and morphological differentiation of acidophilic and neutrophilic soil streptomyces]. **Mikrobiologija**, [S.I], v. 73, n. 1, p. 89-93, Feb 2004.

ZAKARIA, L.; SAHAK, S.; ZAKARIA, M.; SALLEH, B. Characterisation of colletotrichum species associated with anthracnose of banana. **Tropical Life Sciences Research**, Universiti Sains Malaysia, v. 20, n. 2, p. 119-125, Dec 2009.

ZANI, C.; RESTIVO, F. M.; CARCELLI, M.; FERETTI, D.; PELOSI, G.; ROGOLINO, D.; DEGOLA, F.; GALATI, S.; BISCEGLIE, F.; BUSCHINI, A. A Biotechnological Approach for the Development of New Antifungal Compounds to Protect the Environment and the Human Health. **Journal of Public Health Research**, [S.I], v. 4, n. 613, p. 185-189, Nov 17 2015.

ZENOVA, G. M.; KOZHEVIN, P. A.; MANUCHAROVA, N. A.; LUBSANNOVA, D. A.; ZHANG, H. Y.; XUE, Q. H.; SHEN, G. H.; WANG, D. S. Effects of actinomycetes agent on ginseng growth and rhizosphere soil microflora. **Ying Yong Sheng Tai Xue Bao**, [S.I], v. 24, n. 8, p. 2287-2293, Aug 2013.

ZHANG, J.; WANG, X.-J.; YAN, Y.-J.; JIANG, L.; WANG, J.-D.; LI, B.-J.; XIANG, W.-S. Isolation and identification of 5-hydroxyl-5-methyl-2-hexenoic acid from Actinoplanes sp. HBDN08 with antifungal activity. **Bioresource Technology**, [S.I], v. 101, n. 21, p. 8383-8388, Nov 2010.

ZHANG, J.; ZHANG, L. Improvement of an Isolation Medium for Actinomycetes. **Modern Applied Science**, [S.I], v. 5, n. 2, 2011.

ZHANG, N.; SUN, C.; SONG, Z.; GUO, H.; ZHANG, B.; QIU, N.; LIU, X. Isolation, purification and characterization of antifungal substances from Streptomyces hygroscopicus BS-112. **Wei Sheng Wu Xue Bao**, [S.I], v. 51, n. 2, p. 224-232, Feb 2011.

ZHANG, Q.; YONG, D.; ZHANG, Y.; SHI, X.; LI, B.; LI, G.; LIANG, W.; WANG, C. Streptomyces rochei A-1 induces resistance and defense-related responses against Botryosphaeria dothidea in apple fruit during storage. **Postharvest Biology and Technology**, [S.I], v. 115, p. 30-37, May 2016.

ZHANG, Y.; XIA, Z.; CAO, X.; LI, J.; ZHANG, L. New isolation methods and phylogenetic diversity of actinobacteria from hypersaline beach in Aksu. **Wei Sheng Wu Xue Bao**, [S.I], v. 53, n. 8, p. 798-808, Aug 2013.

ZHENG, M.; SHI, J.; SHI, J.; WANG, Q.; LI, Y. Antimicrobial effects of volatiles produced by two antagonistic Bacillus strains on the anthracnose pathogen in postharvest mangos. **Biological Control**, [S.I], v. 65, n. 2, p. 200-206, May 2013.

ZUCCHI, T. D.; BONDA, A. N.; FRANK, S.; KIM, B. Y.; KSHETRIMAYUM, J. D.; GOODFELLOW, M. Amycolatopsis bartoniae sp. nov. and Amycolatopsis bullii sp. nov., mesophilic actinomycetes isolated from arid Australian soils. **Antonie Van Leeuwenhoek**, [S.I], v. 102, n. 1, p. 91-98, Jun 2012.

ZUCCHI, T. D.; GUIDOLIN, A. S.; CONSOLI, F. L. Isolation and characterization of actinobacteria ectosymbionts from *Acromyrmex subterraneus brunneus* (Hymenoptera, Formicidae). **Microbiology Research**, [S.I], v. 166, n. 1, p. 68-76, 2011