
ANTIBIOSE NA RIZOSFERA

MARCIA DE FATIMA INACIO FREIRE
Mestre, Prof. Substituta, DS-IF-UFRRJ

RESUMO

O ambiente rizosférico envolve diversas relações ecofisiológicas. A antibiose é parte desse contexto, servindo inclusive como mecanismo de seleção para as espécies mais adaptadas. Substâncias biologicamente ativas podem ser exudadas pelas raízes de algumas espécies vegetais ou extraídas através de solventes orgânicos, quando existe o interesse farmacológico. Raízes obtidas através de transformação genética de plantas de *Agrobacterium rhizogenes* abrem caminho para a obtenção de compostos bioativos sem as variações impostas pelo ambiente. Microorganismos, simbioses ou não, tais como bactérias, actinomicetos e fungos também produzem substâncias de potencial atividade biológica. No vegetal a existência de tais metabólitos parece estar ligada a sua defesa química contra o ataque de patógenos enquanto nos microorganismos estas parecem servir também a uma melhor sobrevivência quando em ambientes competitivos.

Palavras chave: antibiose, rizosfera, metabólitos secundários

ABSTRACT

The rhizospheric environment is coupled to several ecophysiological systems. The antibiosis is part of this context, serving as a selective mechanism owned by the more adapted species. Biologically active substances, exuded by roots of some plant species, can be extracted with organic solvents, generating products with pharmacological regard. Roots, obtained by genetic transformation of plants with *Agrobacterium rhizogenes*, potentially open the way to the obtention of such bioactive compounds, without having the variations imposed by the environment. Microorganisms, symbionts or not, like bacteria, actinomycetes and fungi can also produce potentially bioactive substances. In the vegetable, the existence of such metabolites seems to be related to its chemical defense against the pathogens attack. In like fashion, microorganisms produce similar substances in order to help a better surviving, when the ambient conditions are hostile or accentingly competitive.

Key words: antibiosis, rhizosphere, secondary metabolites

INTRODUÇÃO

Os microorganismos fitopatogênicos, ao invadirem uma planta, necessitam atravessar barreiras físicas e que reduzem a velocidade do ataque microbiano, sem contudo proporcionar uma proteção efetiva contra a invasão. Uma vez vencidas as barreiras físicas, restam às barreiras químicas o papel de conferir resistência à recuperação de plantas infectadas. Não se pode descartar também aspectos relativos as interações químicas entre microorganismos simbioses e os mecanismos de proteção das plantas.

Segundo GOTTlieb, (1982), as famílias vegetais são classificadas em termos de evolução com base na diversificação das suas vias metabólicas e na oxidação dos metabólitos delas originados. Entre os vários tipos de compostos conhecidos, os compostos fenólicos e polifenólicos distribuídos universalmente nas plantas superiores são notadamente tóxicos para microorganismos patogênicos. Entretanto essas atividades foram determinadas "in vitro" e carecem de estudos mais intensos para serem aplicadas a campo.

Certas substâncias químicas denominadas fitoalexinas são produzidas pelo vegetal no momento em que ocorre a infecção. O papel preciso dessas substâncias nessas enfermidades ainda precisa ser esclarecido, embora aceite-se a existência de tais compostos como componentes de barreiras químicas pré-infecciosas. Até o presente, as substâncias resultantes do metabolismo secundário (especializado) originaram 119 drogas com estruturas conhecidas, extraídas de cerca de 90 espécies de plantas superiores (BRAZ-FILHO, 1994).

Pode-se dizer que microorganismos fitopatogênicos são capazes de também romper as barreiras químicas desencadeando diferentes reações bioquímicas, com alterações no consciente respiratório do metabolismo primário vegetal. Estes são compensados por interações com a microbiota simbiote. Uma prova disto é que a susceptibilidade a enfermidades é frequentemente maior em plantas cultivadas. Aquelas que crescem em comunidades naturais são resistentes ao ataque microbiano ou coexistem em relação simbiote com os parasitos sem apresentar sintomas visíveis (HARBORNE, 1982).

A região em torno das raízes dos vegetais possui características particulares que a difere de outras regiões do solo. Várias interações ecofisiológicas podem ocorrer a nível de rizosfera, envolvendo: as raízes e o solo; as raízes de diferentes populações da comunidade vegetal; a microbiota e o solo; as comunidades animais; as populações microbianas entre si e interações entre microorganismos e a vegetação (CARDOSO & FREITAS, 1992).

As diferentes populações microbianas interagem através de mecanismos de competição e amensalismo de forma a selecionar biologicamente os mais competitivos. A modificação genética de exudados radiculares podem, também tornar algumas espécies vegetais mais resistentes ao ataque de fitopatógenos.

INTERAÇÕES ENTRE MICRO-ORGANISMOS DA RIZOSFERA

Diversos pesquisadores tem estudado o potencial antibiótico de vários microorganismos simbiotes, com o objetivo de caracterizar reações primárias, assim como a significância

da antibiose e da resistência induzida na proteção das raízes.

Segundo BELLEI & CARVALHO, (1992), fungos ectomicorrízicos podem intervir no controle biológico de doenças provocadas por agentes patogênicos radiculares, reduzindo as doenças causadas por *Phytophthora*, *Pythium* ou *Rhizoctonia*.

SYLVIA (1983), estudando a influência de *Laccaria laccata* na resistência de raízes primárias de Douglas-fir à infecção por *Fusarium oxysporium* verificou que metabólitos extracelulares de *L. laccata* inibiam o desenvolvimento de hifas, ao mesmo tempo que retardavam a germinação de microconídios e clamidosporos. Compostos fenólicos acumulados no córtex radicular, separados por diálise, indicavam que metabólitos exógenos induziram a proteção radicular. A invasão do córtex radicular foi significativamente reduzida, de modo inverso à concentração dos compostos fenólicos produzidos por *L. laccata* nas células corticais.

Da mesma forma, diversos microorganismos produtores de antibióticos tem sido isolados da rizosfera de diversas plantas à partir de habitats silvestres. KEMPF & WOLF (1989), na Alemanha verificaram atividade antibiótica em 15 isolados bacterianos e 54 actinomicetos simbiotes da rizosfera e do rizoplane de gramíneas. Nesta oportunidade, a atividade antibiótica "in vitro" contra *Fusarium culmorum* foi correlacionada com a capacidade de antibiose "in vivo". O tratamento de radículas e solos com os isolados microbianos, realizados em casas de vegetação originou mutantes incapazes de produzir substâncias antibióticas, entretanto capazes de inibir o desenvolvimento do fitopatógeno. Estes agentes, sem atividade antibiótica e não produtores de sideróforos, aparentemente competem por nutrientes, fornecendo uma barreira pré-infecciosa relativa. Os simbiotes produtores de antibióticos produziram uma inibição de 75% de infecção por *F. culmorum*, sugerindo que a antibiose foi o principal mecanismo de proteção radicular.

Estudo semelhante foi desenvolvido no Brasil (MOTOMURA et al, 1994), onde 51 isolados de solo e raízes de milho mostraram-se ativos contra *Fusarium moniliforme*, produtor de Fumonisin B1 e B2. Os sobrenadantes de cultivos axênicos mostraram que 34 produziram substâncias antibióticas. Os dezessete isolados restantes, ao contrário

talvez tenham suas atividades relacionadas à competição no ambiente rizosférico.

Entre os vários simbioses radiculares os gêneros *Rhizobium* e *Bradyrhizobium* são de especial interesse por serem amplamente estudados e por apresentarem, ao lado da capacidade de fixação do nitrogênio, grande potencial antibiótico, tanto para plantas leguminosas quanto para não leguminosas (EHTESHAMUL-HAQUI & GHAFAR, 1993). Os exudatos, tanto de leguminosas quanto de não leguminosas, têm a capacidade de estimular quimiotaticamente estes gêneros microbianos, independentemente de suas especificidades por leguminosas. Estes gêneros de simbionte migram, então e colonizam a rizosfera, protegendo-a de agentes fitopatogênicos.

Outros microorganismos simbioses da rizosfera com atividade antibiótica relevante pertencem ao gênero *Pseudomonas*. Neste gênero, ressalta-se a *P. cepacia*, reclassificada como *Burkholderia cepacia*, com reconhecida capacidade para antagonizar e reprimir fitopatogênicos do solo, além de degradação de pesticidas (HEBBAR et al, 1992). Sua utilização a campo, de outro modo, é comprometida porque várias espécies semelhantes foram isoladas de casos clínicos humanos. Soma-se a isto, o fato de ser *B. cepacia* extremamente resistente a antibióticos. Amostras de *B. cepacia* isoladas de plantas, solos e humanos foram estudadas e diferenciadas de acordo com as diferenças na produção de bacteriocidina, efeitos sobre a cebola, hidrólise de agar-pectato e tamanho de plasmídios residentes. BEVIVINO et al, (1994) estudaram as características fenotípicas de *B. cepacia* que a distinguiu daquelas responsáveis por doenças em humanos. Estes autores verificaram que *B. cepacia* isolada da rizosfera é bastante diferente daquelas que causam doença. As amostras da rizosfera fixam nitrogênio (BALDANI et al, 1996), têm elevada ação antibiótica contra fitopatogênicos, não aderem às células uro-epiteliais humanas e sintetizam um sideróforo semelhante a hidroxamato.

EXUDATOS RADICULARES

Em estudos realizados com plantas cultivadas, verificou-se que a colonização por bactérias poderia implicar na limitação do crescimento de cultivares. Muitas destas rizobactérias foram

identificadas como pertencentes aos gêneros *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Citrobacter* e *Achromobacter*. KREMER et al, (1990), estudando rizobactérias isoladas a partir de ervas daninhas, na América do Norte, determinaram seus efeitos sobre o desenvolvimento de cultivares e potencial antibiótico. Estes autores verificaram que a antibiose predomina entre isolados de *Pseudomonas spp* fluorescentes. Setenta e cinco por cento dos isolados induziram, através de sideróforos, a exudação de substâncias com atividade antibiótica à partir das ervas daninhas. As substâncias que compõem os exudatos radiculares desempenham papel de destaque no desenvolvimento dos vegetais, especialmente nos primeiros estágios de desenvolvimento (ROVIRA, 1962). Este efeito da rizosfera envolve equilíbrio da microbiota residente. O metabolismo do ácido-indol-acético no solo, por exemplo, desempenha papel de significativa importância tanto ecológica quanto microbiologicamente. A decomposição do ácido-indol-acético ocorre primeiramente na região radicular e parece ser decorrente a ação de microorganismos que ali colonizam. Entre os microorganismos que degradam esse ácido, predominam os bacilos gram-negativos nos solos não rizosféricos como as floresas de *Pinnus*. Na região rizosférica de *Pinnus* as bactérias predominam. Dentre estas, as bactérias do gênero *Arthrobacter*, que representam trinta a cinquenta por cento das bactérias do solo, utilizam o ácido-indol-acético como única fonte de carbono e nitrogênio e podem ser os agentes de maior importância na detoxicação da rizosfera (RACZKOWSKA-BLACH et al, 1995).

COMPOSTOS LIBERADOS POR EXTRATOS DE RAÍZES

O estudo dos compostos liberados pelas plantas originou ensaios de extração química de produtos vegetais tanto com atividades agroindustriais como terapêuticas, aplicadas às enfermidades que causam agravos em humanos e animais.

Espécies vegetais pertencentes às famílias Compositae e Leguminosae compreendem a maioria das plantas estudadas até o presente com atividade biológica, sendo utilizadas como anti-inflamatórias, bactericidas, antifúngicas, antioxidantes entre outras (ALICE et al, 1991; BRITO et al, 1993; HAMMER & JOHNS, 1993; CHANG, 1995).

MANDAL et al (1993), estudando extratos de raízes de *Mikania cordata*, amplamente distribuída nas regiões tropicais da Índia e África, verificaram intensa atividade regeneradora das atividades hepática e reticuloendotelial em animais experimentalmente intoxicados com clorofórmio.

Da mesma forma, conseguiu-se produzir escopolarina (droga de elevada atividade anticolinérgica) à partir de cultivares artificiais de raízes de *Hyoscyamus niger* (WOO et al, 1995).

Os estudos oriundos da utilização tradicional de extratos aquosos, ou chás de raízes têm originado grande número de compostos com atividades ainda não completamente conhecidas. A decoção de *Acácia nilótica*, por exemplo, oferece substâncias desconhecidas com ação neuro-estimulante e antibiótica (ELNABI et al, 1992).

A casca de raízes de *Erythrina abyssinica* tem ampla utilização no leste da África em vários remédios populares para doenças tais como sífilis e malária. Desta espécie foram isolados quatro pterocarpanos, cinco flavanonas e uma chalcona, todas com uma fraca atividade antimicrobiana. Entretanto, os flavonóides ativos apresentaram importante ação de defesa da planta contra o ataque de microorganismos do solo (BRAZ-FILHO, 1994).

RAÍZES TRANGÊNICAS

De todas as partes das plantas, a raiz é a menos estudada. Uma vez que muitos compostos que têm origem na rizosfera são ativos contra patógenos do solo, a compreensão de sua biossíntese e regulação irá permitir o futuro desenvolvimento de sistemas biológicos resistentes à pragas (FLORES, 1992).

O interesse por cultura de células para produção de metabólitos ativos, com poucas exceções, visa a utilização comercial de fármacos pela população. Esse potencial é amplamente reconhecido e sendo estudado ao longo dos últimos trinta anos (SAITO et al, 1992). Entretanto, a cultura de células de tecidos desorganizados gera problemas devido as variações somáticas das culturas vegetais, que podem induzir perda de produtividade ao longo do tempo e instabilidade das vias bioquímicas. A utilização de tecidos vegetais,

como as raízes obtidas por transformação genética de plantas através de *Agrobacterium rhizogenes* representam, então, uma excelente fonte de produção de metabólitos bioativos (ILLG, 1991).

A obtenção de metabólitos especiais à partir de raízes transformadas de *Cephaelis ipecacuanha* com amostra de *Agrobacterium rhizogenes* (FLORES 1987, 1992) reforça essa possibilidade. Compostos bioativos são produzidos de maneira constante e uniforme, já que nestes casos não ocorrem as variações climáticas, químicas e microbiológicas encontradas na natureza.

Entretanto, a manipulação do metabolismo secundário à partir de técnicas de transgênesis, embora ofereça perspectivas avançadas de pesquisa, necessitam de conhecimentos bastante detalhados da biologia molecular e celular da planta estudada, com informações consistentes de aspectos químicos, bioquímicos e moleculares dos componentes a serem obtidos (SAITO et al, 1992, BERBARA et al, 1995).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Agentes nocivos produzidos por diversos organismos patogênicos podem determinar doenças importantes que afetam a qualidade dos vegetais nas colheitas e de grãos comestíveis. Embora seja difícil remover tais agentes deletéricos a saúde das plantas, é possível diminuir o risco de exposição através de seu controle. Neste caso substâncias neutralizantes além de fornecerem vegetais mais saudáveis, são também seguras, prevenindo o espalhamento de agentes patogênicos e substâncias tóxicas no ecossistema. O ambiente rizosférico, com seu número e diversidade de organismos é uma fonte em potencial para produção de futuros antibióticos de utilização comercial. O estudo das relações ecofisiológicas que ali ocorrem abrem as portas para esse conhecimento.

A maior vantagem na utilização desses antibióticos naturais está no fato de que estes não causam impacto no ambiente e de que sua produção nos vegetais, para isolamento em larga escala, pode ser alcançado por manipulação genética (transgênesis).

Sendo o vegetal um organismo vivo, os fatores bióticos e abióticos podem interferir na síntese

das substâncias resultantes do seu metabolismo. Fatores tais como: nível de fertilidade dos solos, umidade, radiação solar, vento, temperatura, a biota e a microbiota associadas. Nesse ponto, principalmente, os conhecimentos a cerca da rizosfera e das relações ecofisiológicas envolvidas são de extrema relevância. A pesquisa científica de caráter interdisciplinar, onde haja contribuição de diferentes grupos profissionais (químicos, botânicos, farmacêuticos, engenheiros florestais, biólogos, médicos, entre outros) trabalhando de forma integrada, mostra-se como um caminho promissor a ser seguido para o uso racional da natureza como fonte de produtos antibióticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLICE, C. B, VARGAS, V. M. F, SILVA, G. A. A. B, SIQUEIRA, N. C. S, SCHAPOVAL, J. G, HENRIQUES, J. A. P, HENRIQUES, A. T. Screening of Plants Used in South Brazilian Folk Medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 35, p. 165-71, 1991.
- BALDANI, J. I., CARUSO, L., BALDANI, V. L. D., GOI, S. R., DOBEREINER, J. Recent Advances in BNF with non-legume plants. *Soil Biology Biochemistry* (em publicação).
- BELLEI, M. M. C, CARVALHO, E. M. S. Ectomicorrizas. In: CARDOSO, E. J. B. N, ISAI, S. M, NEVES, M. C. P. *Microbiologia do Solo*, Campinas-SP. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, cap. 21, p. 297-318, 1992.
- BERBARA, R. L. L., MORRIS, B. M., FONSECA, M. A. C., GOW, N. A. R., DAFT, M. J. Electrical currents associated with arbuscular mycorrhizal interactions. *New Phytologist*. Great Britain, v. 129, p. 433-38, 1995.
- BEVIVINO, A, TABACCHIONI, S, CHIARINI, L, CARUSI, M. V, DEL GALO, M, UISCA, P. Phenotypic comparison between rhizosphere and clinical isolates of *Burkholderia cepacia*. *Microbiology*. Great Britain, v. 140, p. 1069-77, 1994.
- BRAZ-FILHO, R. Química de Produtos Naturais: Importância, Interdisciplinaridade, Dificuldades e Perspectivas. *Química Nova*, v. 5, p. 405-45, 1994.
- BRITO, A. R. M. S, BRITO, A. A. S. Forty years of Brazilian Medicinal Plant Research. *Journal of Ethnopharmacology*, n. 39, p. 53-67, 1993.
- CARDOSO, E. J. B. N, FREITAS, S. S. Rizosfera. In: CARDOSO, E. J. B. N, ISAI, S. M, NEVES, M. C. P. *Microbiologia do Solo*, Campinas-SP. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, cap. 4, p. 41-57, 1992.
- CHANG, C. P, CHANG, J, WANG, F, CHANG, J. The effect of Chinese medicinal herb *Zingiberis rhizoma* extract on cytokine secretion by human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 48, p. 13-9, 1995.
- EHTESHAMUL-HAQUI, S, GHAFFAR, A. Use of Rhizobia in the Control of Root Rot Diseases of Sunflower, Okra Aoybean an Mungbean. *Phytopathology*, v. 138, p. 157-163, 1993.
- EL NABI, O. M. A, REISINGER, E. C, FRANZ, R. F, STILL, U. E, KREJS, G. J. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 37, p. 77-9, 1992.
- FLORES, H. E, CURTIS, W. R. Approaches to Understanding and Manipulating the Biosynthetic Potential of Plant Roots. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 665, p. 188-209, 1992.
- FLORES, H. E, HOY, M. W, PICKARD, J. J. Secondary Metabolites From Root Cultures. *Trends in Biotechnology*, v. 5, p. 64-9, 1987.
- GOTTLIEB, O. *Micromolecular Evolution, Systematic and Ecology*. Berlin: Springer-Verlag, 1982.
- HAMMER, M. L. A, JOHNS, E. A, Tapping an Amazônia Plekora: Four Medicinal Plants of Marajo Island Pará (Brasil). *Journal of Ethnopharmacology*, v. 40, p. 53-75, 1993.
- HARBORNE, J. OB. *Introduction to Ecological Biochemistry*. 2. ed., London: Academic Press, 1982.
- HEBBAR, K. P, DAVEY, A. G, DART, P. J. Rhizobactéria of Maize Antagonistic to *Fusarium moniliforme*, a Soil-borne Fungal Pathogen: Isolation and Identification. *Soil Biological Biochemistry*, v. 24, p. 979-98, 1992.

- ILLG, R. D. Plant Tissue Culture Techniques. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v. 86, suppl. II, p. 21-4, 1994. Special Issue.
- KREMER, R. J, BEGONIA, M. F. T, STANLEY, L, LANHAM, E. T, Characterization of Rhizobactéria Associated with Weed Seedlings. Applied and Environmental Microbiology. v. 56, n. 6, 1990.
- KEMPF, H. J, WOLF, G. *Erwinia herbicola* as Biocontrol Agent of *Fusariumculmorum* and *Puccinia recondita f. sp. Triticum* ou Wheat. Phytopathology, v. 79, p. 990-4, 1989.
- MANDAL, P. K, BYSHAYEE, A, CHATTERJEE, M. Stimulation of Tissue Repair by *Mikania cordata* Root Extract in Carbon Tetrachloride-induced Liver Injury in Mice. Phytotherapy Research, v. 7, p. 103-5, 1993.
- MOTOMURA, M, LOURENÇO, C. E, VENTURINI, D, HIROOKA, E. Y. Antifúngicos Isolados de Microorganismos de Solo e Milho, Ativos Contra *Fusarium moniliforme*. I Congresso Latino Americano de Micotoxicologia- VIII Encontro Nacional de Micotoxinas (anais), Rio de Janeiro-Brasil, 1995.
- RACZKOWSKA-BLACH, ROZYCKI, H, STRZELCZYK, E, POKOJSKA, A. Decomposition of Indoleacetic Acid (IAA) in Soil and by Bacterial Strains Isolated From Soil and From the Root Zona of Scots Pine (*Pinus sylvestris* L.) Microbiological Research, v. 150, p. 256-70, 1995.
- ROVIRA, A. D. Plant-Root Exudates in Relation to the Rhizosphere Microflora. Soils and Fertilizers, Cornell, v. 25, p. 167-72, 1962.
- SAITO, K, YAMAZAKI, M, MURAKOSHI, I. Transgenic Medicinal Plants: *Agrobacterium* Mediated Foreign Gene Transfer and Production of Secondary metabolites. Journal of Natural Products, v. 55, p. 149-62, 1992.
- SYLVIA, D. M, Role of *Laccaria laccata* in Protecting Primary Roots of Douglas-fir From Root Rot. In: ATKINSON, D, BHAT, K. K. S, COUTTS, M. P, MASON, P. A, READ, D. J. Tree Systems and Their Mycorrhiza, v. 7, p. 299-302, 1983.
- WOO, S. H, PARP, J. M, YANG, J. Production of Scopolamine By Normal Root Culture