

PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO DE MUDAS DE TOMATEIRO EM SUBSTRATO INCUBADO EM DIFERENTES ÉPOCAS COM *Streptomyces*.

Carla da Silva Sousa^{*}
Marlon da Silva Garrido^{**}
João Luiz Coimbra^{***}

RESUMO: O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade enzimática e o efeito de isolados de actinomicetos do gênero *Streptomyces* na promoção de crescimento de mudas de tomateiro. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, no esquema fatorial 2 x 5 (2 isolados de *Streptomyces* x 5 períodos de incubação do substrato: 0, 15, 30, 45 e 60 dias), com 5 repetições. Para a avaliação da atividade celulolítica e xilanolítica, os isolados de *Streptomyces* foram cultivados nos meios carboximetilcelulose-ágar e xilana-ágar, incubados a 26 °C e avaliados após 8 dias. Ambos isolados apresentaram atividade celulolítica e apenas o isolado AC 103 demonstrou atividade de xilanase. Para os caracteres altura da muda, diâmetro do caule e matéria seca da parte aérea, equações quadráticas explicam o crescimento da muda nos substratos submetidos a diferentes períodos de incubação. Apenas o caractere matéria seca da raiz pode ser explicado por uma equação linear. Os isolados de *Streptomyces* sp., ambos com atividade celulolítica, promovem o crescimento de mudas de tomateiro no substrato Plantimax[®] infestado e incubado com esses isolados. O melhor período de incubação do substrato com os isolados de *Streptomyces* sp. é de 43 dias. A utilização de substratos orgânicos incubados com isolados de *Streptomyces* sp., pré-selecionados com atividade celulolítica, aumenta a eficiência de utilização destes substratos pelas plantas.

Palavras-chave: *Streptomyces* sp.; *Lycopersicon esculentum*; Celulase; Xilanase.

INTRODUÇÃO

Os actinomicetos, principalmente os pertencentes ao gênero *Streptomyces*, são mundialmente conhecidos, por apresentarem características importantes para o controle biológico e promoção de crescimento de plantas, como a capacidade de produção de antibióticos, produção de enzimas com ação antimicrobiana, produção de substâncias promotoras de crescimento e decomposição da matéria orgânica (CRAWFORD et al., 1993). Também produzem chitinase e β -glucanases que agem no controle de fungos fitopatogênicos (GOMES et al., 2000), mostrando-se excelentes colonizadores do sistema radicular de plantas.

Esses microrganismos são conhecidos pela capacidade de degradação de moléculas complexas e recalcitrantes, especialmente celulose, lignocelulose e lignina, fazendo com que tenham um papel importante nos processos de compostagem (CRAWFORD, 1988). A celulose é um dos componentes mais abundantes na biomassa vegetal, sendo degradado por uma série de microrganismos por meio da ação de várias enzimas associadas em complexo, como nos cogumelos de filamentos e em alguns actinomicetos ou formando um complexo denominado “celulosoma”, como no Clostrídios e em bactérias do rumem (MURASHIMA; KOSUGI; DOI,

^{*} Engenheira Agrônoma, Mestranda em Ciências Agrárias – Escola de Agronomia/UFBA, cssagro@yahoo.com.br.
Orientadora: Ana Cristina Fermino Soares, Professora Titular do Departamento de Fitotecnia da Escola de Agronomia da UFBA.

^{**} Engenheiro Agrônomo, Mestrando em Ciências Agrárias – Escola de Agronomia /UFBA, msgarrido@bol.com.br.

^{***} Bolsista PRODOC-CNPq, Escola de Agronomia/UFBA, joaoluizcoimbra@hotmail.com.br.

2002; LYND et al., 2002). A xilana é o principal polissacarídeo constituinte do complexo hemicelulósico das plantas e consiste de uma cadeia principal formada por resíduos de xilopiranosil unidos por ligações β -1,4-glicosídicas (BIELY, 1993). Xilanases são enzimas extracelulares, produzidas principalmente por fungos e bactérias, que podem ser empregadas em indústrias de papel como auxiliares no branqueamento de polpas Kraft (FERREIRA FILHO, 1994).

O presente trabalho tem o objetivo de avaliar a atividade enzimática de dois isolados de *Streptomyces* sp. e o efeito da incubação de um substrato orgânico com os estreptomicetos, na promoção de crescimento de mudas de tomateiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Os isolados de *Streptomyces* sp. AC 103 e AC 26 foram multiplicados em placas de Petri, contendo meio AGS e incubados por um período de 7 dias a temperatura ambiente ($25 \pm 3^{\circ}\text{C}$). O meio AGS contém a seguinte composição: L-arginina - 1g, glicerol - 12,5g, K_2HPO_4 - 1g, NaCl - 1g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,5g, solução de micronutrientes - 1 ml, agar - 20g, água destilada - 1L. A solução de micronutrientes é composta por: $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ - 1g, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ - 0,1g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,1g, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ - 0,1g, água destilada 100 mL. Após o período de crescimento dos actinomicetos, foram adicionados, em cada placa com a cultura, 15 ml de água destilada previamente esterilizada e, com o auxílio de alça de platina, foi feita a raspagem das colônias, obtendo-se uma suspensão de células de *Streptomyces* sp. A concentração dessa suspensão celular foi ajustada para densidade ótica $A_{540} = 0,3$ em espectrofotômetro UV (modelo Bell 1105). O substrato comercial Plantimax® (Eucatex, São Paulo) foi infestado com 20 ml da suspensão de *Streptomyces* para cada 400 cm^3 de substrato e incubado em sacos pretos de polietileno com (10cm x 25 cm), por períodos de 0, 15, 30, 45 e 60 dias antes do plantio, com a semeadura realizada no mesmo dia para todos os tratamentos. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com esquema fatorial 2×5 (2 isolados de *Streptomyces* e 5 períodos de incubação do substrato), com 5 repetições. Após a incubação, foi feita a semeadura com sementes de tomateiro cv Santa Clara (3 sementes por saco) e, uma semana após a semeadura, foi feito o desbaste, deixando-se 1 planta por saco. As plantas foram coletadas com 25 dias após a germinação. Foram avaliados os seguintes caracteres: altura da muda, volume do sistema radicular, diâmetro do caule e matéria seca da parte aérea e da raiz. Foi feita a análise de variância e a comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se o programa estatístico SISVAR (FERREIRA, 2000).

Para avaliar a atividade enzimática dos isolados de *Streptomyces*, foi montado um bioensaio em delineamento experimental inteiramente casualizado, avaliando os 2 isolados de *Streptomyces* (AC 26 e AC 103) quanto à produção das enzimas celulase e xilanase, com 4 repetições. Os isolados de *Streptomyces* foram repicados nos meios de cultura, contendo celulose e xilana como única fonte de carbono. As culturas foram incubadas em temperatura ambiente ($28^{\circ}\text{C} \pm 2$), durante 8 dias. Após esse período, para a revelação do halo das atividades celulolítica e xilanolítica, foram adicionados 10 ml da solução de vermelho congo (0,5%) em cada placa, por 15 minutos e depois de drenado o excesso, foram adicionados 10 ml da solução de NaCl (1 mole.L⁻¹) em cada placa, durante 30 minutos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Trabalhos conduzidos por Soares e outros (2003) demonstraram o efeito benéfico de isolados de *Streptomyces* na promoção de crescimento de mudas de tomateiro, em substrato

Plantimax[®]. Esses autores sugeriram que os actinomicetos podem ter um papel importante no melhor aproveitamento de substratos orgânicos para a produção de mudas. No presente trabalho, foram selecionados dois isolados de *Streptomyces* sp. (AC 26 e AC 103), que apresentaram os melhores resultados de promoção de crescimento, com o objetivo de definir o melhor período de incubação do substrato com esses isolados. Pela análise de variância, não foram observadas diferenças significativas entre os dois isolados de *Streptomyces* sp. e interação entre os períodos de incubação e os isolados. Houve efeito significativo dos períodos de incubação do substrato com os actinomicetos (Figura 1).

Para os caracteres altura da muda, diâmetro do caule e matéria seca da parte aérea, equações quadráticas explicam o crescimento da muda nos substratos submetidos a diferentes períodos de incubação. Apenas o caractere matéria seca da raiz pode ser explicado por uma equação linear.

A infestação do substrato seguida de semeadura (tempo zero de incubação) não foi eficiente para a promoção de crescimento das mudas de tomateiro, o que demonstra a importância do período de incubação para a ação destes microrganismos no substrato de produção de mudas. De acordo com as equações de regressão, para os caracteres altura da muda, diâmetro do caule e matéria seca da parte aérea, o melhor período de incubação do substrato foi 52, 37 e 41 dias, respectivamente, o que corresponde a um período médio 43 dias de incubação. Para a produção de raízes, o maior período de incubação proporcionou maior incremento na matéria seca da raiz.

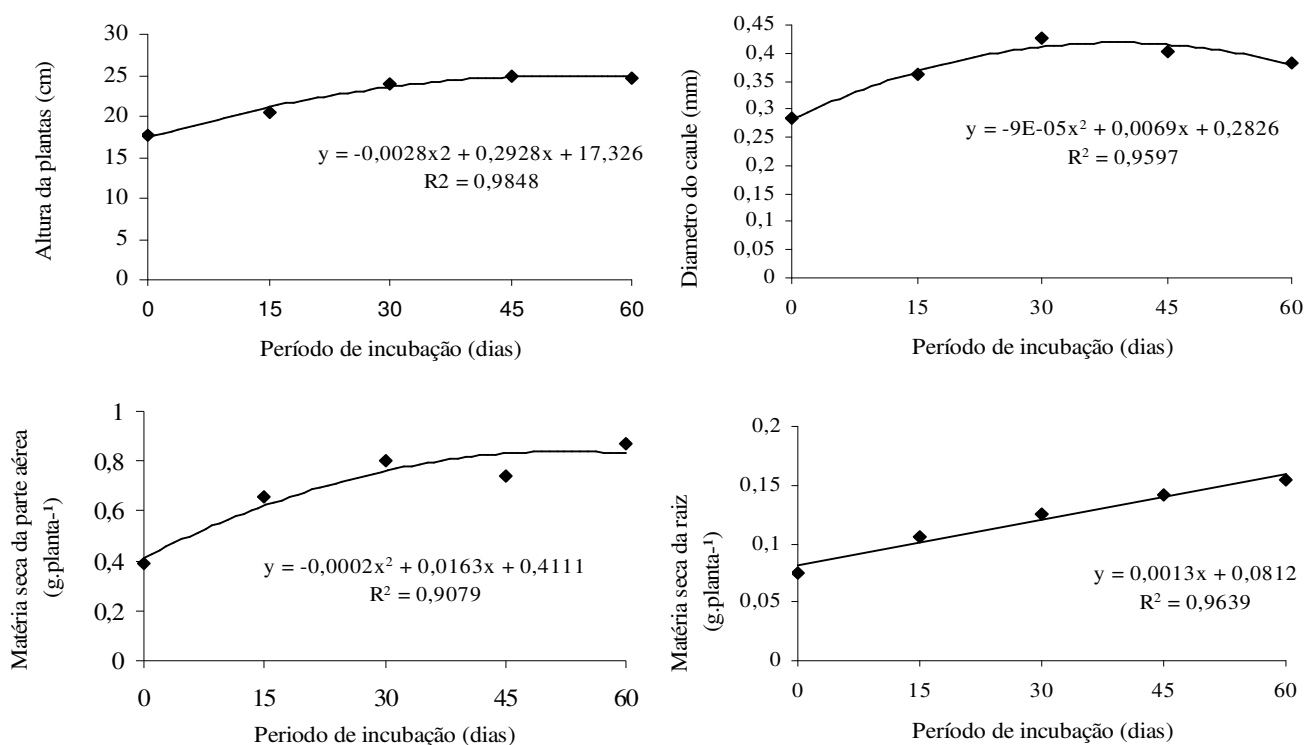


Figura 1. Produção de mudas de tomateiro cv Santa Clara, em substrato Plantimax[®] incubado por diferentes períodos, com dois isolados de *Streptomyces* sp.

O incremento da produção de matéria seca das raízes com o maior período de incubação do substrato pode estar associado à produção de ácidos orgânicos e substâncias reguladoras de crescimento pelos isolados de actinomicetos. Estes microrganismos também podem promover o

alongamento de raízes e aumento de pêlos radiculares, efeito este atribuído à produção de substâncias reguladoras de crescimento, de antibióticos, sideróforos e aos processos de mineralização e solubilização de nutrientes (CATTELAN; HARTEL, 2000).

Apesar da matéria seca da raiz ter sido maior no tratamento com o maior período de incubação do substrato, observou-se uma redução no desenvolvimento da parte aérea da planta (altura da planta, diâmetro do caule e produção de matéria seca) neste tratamento (período de incubação de 60 dias), possivelmente devido à limitação por nutrientes e espaço no recipiente de crescimento das mudas (saco de muda com capacidade para 400 cm³ de substrato). A incubação por um período longo pode causar maior mineralização e solubilização de nutrientes, levando à lixiviação destes logo após a semeadura do tomateiro, proporcionando uma disponibilização imediata dos nutrientes e posterior deficiência destes devido à lixiviação.

Considerando que os actinomicetos são microrganismos com elevada capacidade de decomposição de compostos orgânicos complexos e que o substrato Plantimax[®] é composto por uma mistura orgânica (vermiculita expandida, turfa processada e enriquecida, casca de pinus processada e enriquecida e carvão granulado), conclui-se que estes microrganismos promoveram a decomposição de substâncias orgânicas presentes nesse substrato, liberando nutrientes e outros compostos que favorecem o crescimento da planta e, conseqüentemente, o melhor aproveitamento desse substrato para o crescimento de plantas.

Os actinomicetos são conhecidos pela capacidade de degradação de moléculas complexas e recalcitrantes, especialmente celulose, lignocelulose e lignina, fazendo com que tenham um papel importante nos processos de compostagem (CRAWFORD, 1988). O substrato plantimax[®] é composto basicamente por material rico em celulose. A celulose que é o polissacarídeo de maior ocorrência na natureza, representando a maior parte do CO₂ fixado pelas plantas e sua decomposição ocorre por ação de enzimas (celulases) produzidas por diversos microrganismos, entre eles os *Streptomyces* (MOREIRA; SIQUEIRA, 2002). Períodos mais longos de incubação permitem maior ação desses microrganismos na decomposição do material vegetal. A xilana localiza-se principalmente na parede celular secundária, formando uma interface entre a lignina e outros polissacarídeos.

Ambos os isolados de *Streptomyces* apresentaram atividade celulolítica (Figura 2). Apenas o isolado AC 103 apresentou atividade xilanase (Figura 3). Apesar de o isolado AC 26 não ter apresentado atividade xilanase, não foram observadas diferenças significativas entre a ação destes dois isolados na promoção de crescimento das mudas de tomateiro, sugerindo que a atividade celulolítica, presente em ambos os isolados, possa ter um papel importante na decomposição dos componentes do substrato Plantimax[®], considerando também que outras enzimas não estudadas neste trabalho possam ser produzidas por estes isolados e ter contribuído para o melhor aproveitamento do substrato pelas plantas.

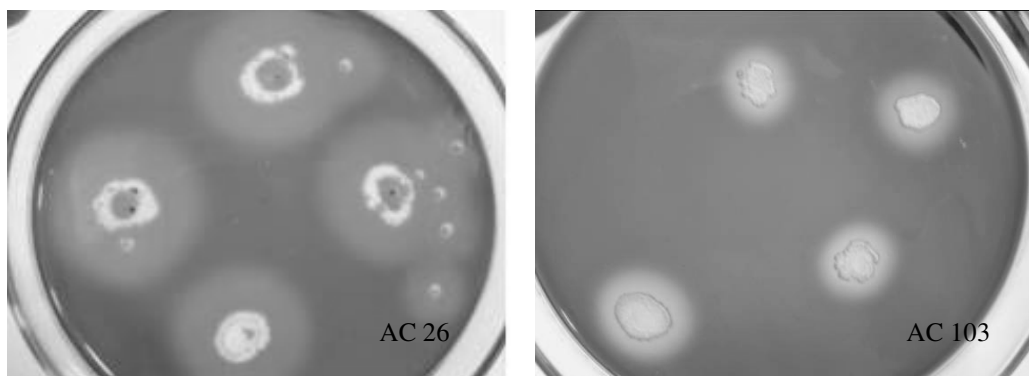


Figura 2. Bioensaio ilustrando a atividade celulolítica dos isolados de *Streptomyces*.

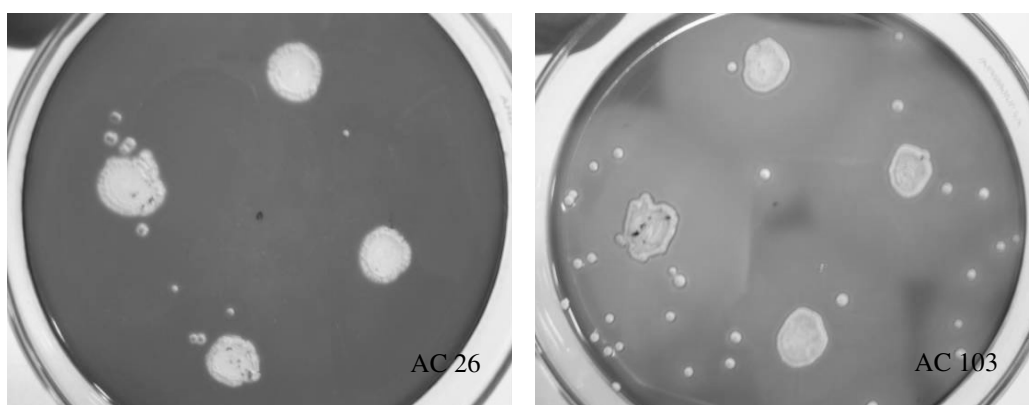


Figura 3. Bioensaio ilustrando a atividade xilanolítica dos isolados de *Streptomyces*. Resultado negativo para o isolado AC 26 e positiva para o isolado AC 103.

CONCLUSÕES

1. Os isolados de *Streptomyces sp.*, ambos com atividade celulolítica, promovem o crescimento de mudas de tomateiro, no substrato Plantimax[®] infestado e incubado com esses isolados.
2. O melhor período de incubação do substrato Plantimax[®] com os isolados de *Streptomyces sp.* é de 43 dias.
3. A utilização de substratos orgânicos incubados com isolados de *Streptomyces sp.*, pré - selecionados com atividade celulolítica, aumenta a eficiência de utilização destes substratos pelas plantas.

REFERÊNCIAS

- BIELY, P. Biochemical aspects of the production of microbial hemicellulases. In Hemicellulose and hemicellulases (Coughlan, M. P. and Hazlewood eds.). p. 29-51, 1993.
- CRAWFORD, D. L. Biodegradation of agricultural and urban wastes. In: (Goodfellow M, Williams, S.T., Mordarski, M. eds) Actinomycetes in Biotechnology, Academic Press, London 1988.
- CRAWFORD, D. L.; et al. Isolation and characterization of actinomycete antagonist of fungal root pathogen. **Applied and Environmental Microbiology**. Oxford, v. 59, n. 11, p. 3899–3905, 1993.
- GOMES, R.C. et al. Chitinolytic activity of actinomycetes from a cerrado soil and their potencial in biocontrole. **Letters in Applied Microbiology**. Rio de Janeiro, v.30, p.146-150, 2000.
- LYND, L. R.; P. J. WEIMER, W. H. VAN ZYL Y I. S. PRETORIUS. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. **Microb. Mol. Biol. Rev.** v. 66, p. 506-577, 2002.
- FERREIRA FILHO, E. X. The xylan-degrading enzyme system (review). **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 27, p. 1093-1109, 1994.
- FERREIRA, D. F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade internacional de Biometria, 45., 2000, São Carlos, **Programa e resumos...** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.
- MOREIRA, F. M. de S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA. 2002. 626p.
- MURASHIMA, K.; A. KOSUGI; R. H. DOI. Synergistic effects on crystalline cellulose degradation between cellulosomal cellulases from *Clostridium cellulovorans*. **Journal of Bacteriology**, v. 184, p. 5088-5095, 2002.
- SOARES, A. C. F.; SOUSA, C. da S.; FONSECA, J. L. L.; SOUSA, S. S.; COSTA, J. A. Mudanças de tomateiro em substrato incubado com actinomicetos. In: XXXVI CONGRESSO BRASILEIRO DE FITOPATOLOGIA, 2003, Uberlândia. **Resumos...** Uberlândia: Sociedade Brasileira de Fitopatologia, 2003. CD-ROM.