

Ocorrência de Actinomicetos com atividade proteolítica, em um solo cultivado

S. Joly

Instituto Zimotécnico

Escola Superior de Agricultura «Luiz de Queiroz»

(*) Recebido para publicação em 5/7/60.

1. — INTRODUÇÃO

Os Actinomicetos são organismos de amplo habitat natural, sendo portanto o solo um meio ambiente que faculta a êsses sêres condições completas de desenvolvimento.

Freqüentes habitantes do solo como são, necessariamente participam das sínteses químicas, das interações antagônicas e dos demais processos bio-pedológicos que se desenvolvem nesse ambiente natural.

Fazendo parte de seu equipamento enzimático figura a protease, responsável pela demolição do substrato proteico, através das formas mais simples que são os aminoácidos e depois amônia.

A habilidade proteolítica dos Actinomicetos é manifesta também contra bactérias fitopatogênicas; em ambos os casos concorre para a realização do grande ciclo do nitrogênio na natureza.

Os primeiros informes que registram a existência dos Actinomicetos como integrantes da flora terrícola, datam de 1888, segundo nos conta WAKSMAN (1950), poucos anos após sua primeira descrição que se realizou em 1875; em 1900, BEIJERINCK constatou que êsses organismos habitam não só o solo, mas também o sub-solo.

Nessa mesma época, em 1900, NADSON (segundo WAKSMAN, 1950) registrou o função dêsses sêres nas modificações geológicas, pois, do lodo de lago salgado pôde isolar algumas cepas com capacidade de decompor proteínas, produzir amônia e H_2S , assim como precipitar $CaCO_3$.

Vivem em solos não cultivados ou cultivados (WAKSMAN, 1916), com largo limite de variação de pH, solos férteis ou não, ocorrendo em tôdas as regiões do globo, representados por muitos gêneros e espécies (WAKSMAN, 1918).

2. — MATERIAL E MÉTODOS

Isolamos 340 cepas de Actinomicetos de um solo Latosol vermelho amarelo, cultivado com cafeeiro, de acidez média, com pH 5,5 — 5,8; o teor de umidade atingiu o mínimo de 4,5% e o máximo de 62% respectivamente nos meses com menor e maior precipitação pluviométrica. O valor em matéria orgânica foi em média de 4,099.

A amostragem se fez pelo espaço de 12 meses, para atingir as 4 estações anuais, em 1958.

As amostras de solo foram coletadas mensalmente, homogenizando-se passando-se em tamis de malha 1,651 mm.

Feita a diluição em água estéril, semeamos em meio de amido agar (BALDACCI 1953), cuja fórmula é a seguinte:

Meio de amido agar

Sol. I

Amido solúvel	10,0 g
H ₂ O	500 ml

Sol. II

K ₂ HPO ₄	1,0
MgSO ₄ .7H ₂ O	1,0
Misturam-se as duas soluções (I e II) e junta-se,	
NaCl	1,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	2,0
CaCO ₃	2,0
Agar	20,0

Incubaram-se as caixas assim semeadas em estufa a 32°C por 3-4 dias. Quando se desenvolveram as colônias elas foram purificadas no mesmo meio agarizado por 2-3 passagens sucesivas até que se apresentassem puras.

A prova da presença de enzima proteolítica foi feita em meio de gelatina a 10% em solução aquosa. As culturas foram incubadas em estufa, sendo feita a leitura com vários dias de desenvolvimento, conforme Quadro I, sendo feita a última leitura ao 30º dia.

As cepas de n.ºs 1 a 86 foram isoladas nos meses de Janeiro a Março: de 87 a 165, nos meses de Abril a Junho: de 166 a 225, nos meses de Julho a Setembro: de 226 a 340, nos meses de Outubro a Dezembro, correspondentes ao verão, outono, inverno e primavera.

Foram eliminadas as cenas de ns. 48, 59, 108, 116, 131, 143, 144, 158, 187, 310, 313, 322 e 333, por terem contraído contaminação no decorrer do trabalho.

3 — RESULTADOS

O resultado da atividade proteolítica aparece nos quadros I - IV e nos gráficos I - IV.

Q U A D R O I
ATIVIDADE PROTEOLÍTICA

Nº da cepa	Nº de dias	Desenvolvimento	Pigmento solúvel
1	18	escasso	amarelo
2	21	abundante	esverdeado
3	18	escasso	amarelo
4	(-)	médio	—
5	18	escasso	amarelo dourado
6	19	"	—
7	18	"	amarelo dourado
8	18	"	amarelo
9	19	médio	—
10	18	escasso	amarelo forte
11	21	escasso	amarelo
12	18	"	creme claro
13	18	"	amarelo forte
14	21	"	amarelo
15	18	"	amarelo forte
16	18	médio	creme claro
17	18	escasso	amarelo
18	21	médio	amarelo
19	(-)	"	—
20	18	escasso	amarelo claro
21	18	"	—
22	21	médio	amarelo
23	19	"	verde claro
24	19	escasso	amarelo
25	18	médio	verde
26	21	escasso	amarelo dourado
27	21	escasso	amarelo
28	18	"	—
29	18	"	amarelo
30	18	médio	amarelo
31	21	escasso	—
32	19	"	amarelo avermelhado
33	15	médio	castanho vinoso
34	19	"	amarelo
35	19	escasso	côr de vinho
36	19	"	—
37	21	"	amarelo
38	18	"	amarelo dourado
39	18	"	—
40	18	"	amarelo dourado
41	19	"	amarelo
42	19	"	amarelo
43	18	médio	amarelo
44	18	escasso	creme claro
45	19	"	amarelo
46	18	"	amarelo forte
47	21	"	amarelo
49	21	"	amarelo

Nº da cepa	Nº de dias	Desenvolvimento	Pigmento solúvel
50	18	escasso	
51	19	"	côr de vinho
52	19	médio	amarelo
53	18	"	amarelo
54	18	escasso	amarelo
55	18	"	amarelo
56	18	"	amarelo
57	21	"	amarelo
58	18	"	amarelo claro
60	18	médio	amarelo
61	17	escasso	—
62	17	"	—
63	20	"	amarelo
64	21	"	amarelo
65	30	médio	amarelo
66	17	escasso	amarelo
67	20	"	amarelo
68	19	"	amarelo
69	19	"	amarelo
70	15	"	amarelo
71	17	"	amarelo
72	21	"	amarelo
73	21	médio	amarelo
74	21	escasso	amarelo
75	17	"	—
76	17	"	amarelo
77	21	"	—
78	17	médio	
79	20	escasso	amarelo
80	15	"	amarelo
81	21	"	amarelo
82	30	médio	amarelo
83	13	"	amarelo
84	17	escasso	—
85	15	"	—
86	(-)	"	—
87	15	"	amarelo claro
88	21	"	—
89	21	"	amarelo
90	19	"	amarelo
91	17	"	amarelo
92	17	médio	—
93	17	escasso	amarelo
94	15	"	—
95	17	"	—
96	10	médio	—
97	24	escasso	amarelo
98	14	médio	amarelo
99	14	escasso	—
100	14	médio	amarelo
101	14	"	—
102	14	"	—

Nº da cepa	Nº de dias	Desenvolvimento	Pigmento solúvel
103	14	médio	amarelo
104	14	"	amarelo
105	24	escasso	amarelo
106	18	"	amarelo
107	18	"	amarelo
109	24	médio	amarelo claro
110	30	escasso	—
111	14	"	amarelo
112	18	"	côr de vinho
113	14	"	amarelo
114	14	médio	amarelo
115	30	escasso	amarelo
117	14	médio	—
118	24	escasso	amarelo
119	14	médio	amarelo
120	14	"	amarelo
121	14	"	verde
122	24	escasso	amarelo
123	18	"	amarelo
124	14	"	amarelo
125	14	"	—
126	14	médio	—
127	14	escasso	amarelo
128	14	"	—
129	14	médio	amarelo
130	14	"	amarelo
132	14	escasso	—
133	14	"	—
134	14	médio	—
135	24	escasso	—
136	14	"	amarelo
137	24	"	amarelo
138	14	"	amarelo
139	17	médio	amarelo claro
140	17	escasso	—
141	17	"	—
142	17	médio	—
145	17	escasso	amarelo
146	17	"	—
147	17	"	amarelo muito claro
148	18	"	—
149	17	médio	amarelo
150	17	escasso	—
151	17	"	amarelo claro
152	17	"	amarelo
153	18	"	amarelo
154	17	médio	amarelo claro
155	17	escasso	amarelo claro
156	17	"	côr de vinho
157	17	"	amarelo
159	17	"	amarelo
160	14	médio	—

Nº da cepa	Nº de dias	Desenvolvimento	Pigmento solúvel
161	17	escasso	amarelo
162	24	"	amarelo
163	17	médio	amarelo
164	17	escasso	amarelo
165	24	"	amarelo
166	17	"	—
167	24	médio	amarelo
168	17	"	—
169	17	escasso	amarelo
170	17	médio	amarelo
171	18	escasso	amarelo
172	17	"	amarelo
173	17	médio	amarelo
174	17	escasso	amarelo
175	17	"	—
176	17	"	amarelo claro
177	24	"	amarelo
178	30	"	amarelo
179	17	"	amarelo
180	24	"	amarelo
181	18	médio	amarelo
182	17	"	amarelo
183	14	escasso	amarelo avermelhado
184	17	"	amarelo
185	14	"	amarelo
186	17	"	amarelo
188	14	"	amarelo claro
189	17	médio	—
190	17	"	amarelo
191	9	escasso	amarelo claro
192	9	"	amarelo claro
193	9	"	—
194	9	"	amarelo claro
195	9	"	amarelo
196	9	"	amarelo
197	9	"	amarelo
198	9	"	amarelo
199	9	"	amarelo
200	9	"	amarelo
201	9	"	amarelo
202	9	"	amarelo
203	16	médio	amarelo
204	9	"	amarelo
205	9	escasso	amarelo
206	9	"	—
207	9	"	amarelo
208	9	"	amarelo
209	9	"	—
210	9	"	—
211	16	médio	—
212	9	"	—
213	16	"	amarelo

Nº da cepa	Nº de dias	Desenvolvimento	Pigmento solúvel
214	16	escasso	amarelo
215	9	"	amarelo
216	9	escasso	amarelo claro
217	9	"	—
218	9	médio	amarelo claro
219	9	escasso	—
220	9	"	amarelo
221	16	"	amarelo
222	16	"	amarelo
223	9	"	—
224	9	"	—
225	21	médio	amarelo
226	9	"	vermelho
227	9	escasso	amarelo
228	9	"	amarelo
229	16	médio	amarelo
230	16	escasso	amarelo
231	16	médio	amarelo claro
232	16	escasso	amarelo
233	9	médio	—
234	9	escasso	amarelo
235	16	"	côr de vinho
236	16	médio	amarelo
237	16	escasso	—
238	21	"	—
239	16	"	—
240	21	"	—
241	9	"	amarelo
242	9	médio	amarelo
243	9	"	amarelo claro
244	(-)	"	—
245	16	"	amarelo claro
246	16	escasso	amarelo
247	16	"	amarelo
248	16	médio	amarelo
249	16	escasso	amarelo claro
250	21	"	amarelo
251	9	médio	amarelo
252	9	"	amarelo
253	16	escasso	amarelo
254	16	"	amarelo
255	16	"	amarelo
256	9	"	—
257	9	"	amarelo
258	9	médio	amarelo
259	9	escasso	—
260	16	"	amarelo
261	9	médio	amarelo claro
262	9	escasso	—
263	21	médio	amarelo
264	21	escasso	amarelo
265	16	médio	amarelo

Nº da cepa	Nº de dias	Desenvolvimento	Pigmento solúvel
266	9	escasso	amarelo claro
267	16	"	—
268	16	"	amarelo
269	16	"	amarelo
270	16	"	amarelo
271	9	"	amarelo
272	16	"	amarelo
273	9	"	—
274	16	"	amarelo
275	9	médio	amarelo
276	16	escasso	amarelo
277	16	"	amarelo
278	16	"	—
279	16	"	—
280	9	médio	amarelo claro
281	16	escasso	amarelo
282	16	"	—
283	9	"	—
284	9	médio	—
285	16	escasso	amarelo
286	16	"	amarelo
287	21	"	amarelo claro
288	9	"	amarelo
289	16	"	—
290	16	"	amarelo
291	9	"	—
292	16	"	—
293	16	médio	—
294	21	escasso	amarelo dourado
295	16	médio	verde
296	21	escasso	amarelo
297	9	médio	—
298	9	"	—
299	9	"	verde
300	9	escasso	—
301	9	"	—
302	16	médio	amarelo
303	9	escasso	amarelo
304	21	"	amarelo dourado
305	16	"	amarelo
306	21	"	amarelo
307	16	"	amarelo
308	9	"	amarelo
309	9	médio	—
311	16	escasso	—
312	16	médio	amarelo
314	9	"	amarelo avermelhado
315	16	escasso	amarelo
316	21	"	—
317	16	"	amarelo
318	9	"	amarelo
319	22	"	—

Nº da cepa	Nº de dias	Desenvolvimento	Pigmento solúvel
320	30	escasso	amarelo
321	15	"	—
323	22	"	amarelo dourado
324	30	"	—
325	(-)	"	amarelo
326	(-)	"	amarelo
327	22	"	amarelo
328	30	"	amarelo
329	30	"	amarelo
330	22	"	verde
331	15	"	amarelo dourado
332	22	"	—
334	22	"	—
335	22	"	amarelo
336	(-)	"	amarelo
337	15	"	castanho
338	30	"	verde
339	15	"	amarelo claro
340	15	"	amarelo claro

QUADRO II
ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DE ACTINOMICETOS ISOLADOS DE SOLO, NAS QUATRO ESTACIONES DO ANO

Estação do ano	Quantidade de cepas ativas	N.º de dias para reação completa	Estação do ano	Quantidade de cepas ativas	N.º de dias para reação completa	Estação do ano	Quantidade de cepas ativas	N.º de dias para reação completa	Estação do ano	Quantidade de cepas ativas	N.º de dias para reação completa
Verão	1	13	Outono	1	10	Inverno	28	9	Primavera	35	9
"	4	15	"	27	14	"	3	14	"	5	15
"	8	17	"	2	15	"	6	16	"	44	16
"	30	18	"	23	17	"	15	17	"	11	21
"	15	19	"	6	18	"	2	18	"	7	22
"	3	20	"	1	19	"	1	21	"	5	30
"	18	21	"	2	21	"	3	24			
"	2	30	"	9	24	"	1	30			
				2	30						
Negativas Contamin. Total	81		Negativas Contamin. Total	73		Negativas Contamin. Total	59		Negativas Contamin. Total	107	
	3			0			0			4	
	2			6			1			4	
	86			79			60			115	

QUADRO III

QUANTIDADE DE CEPAS ATIVAS EM FUNÇÃO DO TEMPO

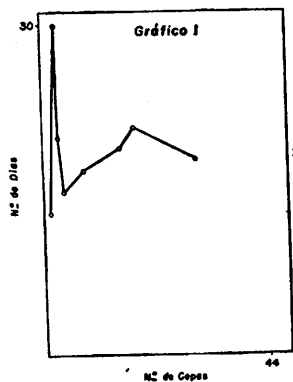
N.º DE DIAS	QUANTIDADE DE CEPAS ATIVAS				
	Verão	Inverno	Outono	Primavera	TOTAL
9			28	35	63
10		1			1
13	1				1
14		27	3		30
15	4	2		5	11
16			6	44	50
17	8	23	15		46
18	30	6	2		38
19	15	1			16
20	3				3
21	18	2	1	11	32
22				7	7
24		9	3		12
30	2	2	1	5	10
TOTAL	81	73	59	107	320

QUADRO IV

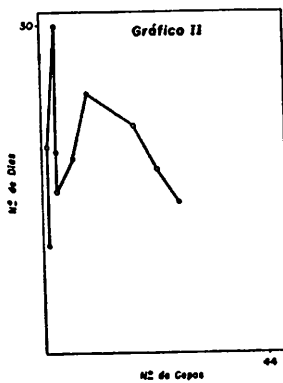
PORCENTAGEM DA ATIVIDADE PROTEOLÍTICA

N.º DE DIAS	PORCENTAGEM DAS CEPAS ATIVAS				
	Verão	Outono	Inverno	Primavera	TOTAL
9	0,31	0,31	8,65	10,70	19,26
10		0,31			0,31
13	0,31				0,31
14		8,25	0,91		9,16
15	1,22	0,61		1,52	3,35
16			1,83	13,45	15,28
17	2,44	7,03		4,58	14,05
18	9,17	1,83	0,61		11,61
19	4,58	0,31			4,89
20	0,91				0,91
21	5,50	0,61	0,31	3,36	9,48
22				2,14	2,14
24		2,75	0,91		3,66
30	0,61	0,61	0,31	1,52	3,05

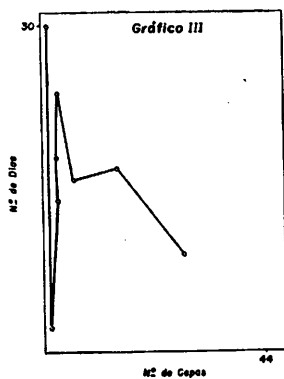
ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DAS CEPAS DE VERÃO



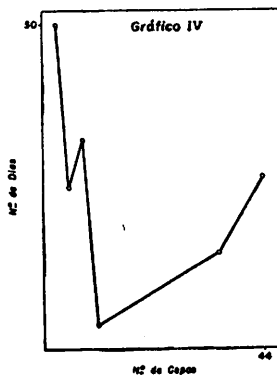
ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DA CEPAS DE OUTONO



ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DAS CEPAS DE INVERNO



ATIVIDADE PROTEOLÍTICA DAS CEPAS DE PRIMAVERA



4. — DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Na primavera houve maior ocorrência de Actinomicetos representados por 115 cepas: segue-se o verão com 86, depois o outono com 79 e, finalmente, o inverno com 60 cepas.

Os gráficos de I-IV ilustram a notável diferença entre a intensidade da atividade proteolítica das cepas nas 4 estações anuais.

Pelos quadros I e II observamos apenas 7 cepas inativas, representando somente 2,15% sobre o total.

O quadro III nos demonstra que o maior número de cepas ativas realizou a cisão completa da gelatina em 9 dias apenas, seguindo-se outras que levaram 16 dias, 17, 18, 21 dias ou mais, revelando forte atividade proteolítica das cepas isoladas naquele lapso de tempo.

O quadro IV revela que a maior atividade proteolítica foi realizada em 16 dias, pelas cepas da primavera, seguindo-se aquelas com 9 dias, também da primavera.

A maioria das cepas foi isolada na primavera, época de clima mais ameno, com regular quantidade de chuva e temperatura média. A quantidade de matéria orgânica foi mantida aproximadamente a mesma durante o ano: não se pode, pois, atribuir a variação numérica das cepas à modificação quantitativa da matéria orgânica.

5. — CONCLUSÕES

Quase a totalidade dos Actinomicetos Isolados possui atividade proteolítica, representada por 97,85% sobre o total.

As cepas isoladas na primavera gozam de predominância numérica sobre os demais e são exatamente essas que possuem mais pronunciada atividade proteolítica.

Atribui-se ao clima dessa estação anual essa vantajosa diferença, porquanto o teor de matéria orgânica foi mantido aproximadamente num mesmo nível.

Observamos enérgica capacidade proteolítica num limite máximo de 16 dias, nas cepas da primavera.

Sendo êsses Actinomicetos Isolados de solo podemos supor, com maior razão, que em seu habitat natural essa função seja igual senão mais intensa.

Disso concluímos que êsse solo de onde provieram estas cepas possui uma das principais características de fertilidade.

Os Actinomicetos desempenham no solo um papel tão importante quanto os demais componentes da microflora terrícola.

6. — SUMMARY

Among 327 strains of Actinomycetes isolated in 1958 during the four seasons, 97,85 per cent had proteolytic activity.

Most of the strains were isolated in spring time.

About the organic matter no conclusions were reached, because it was maintained constant with a average value of 4.099. So the different number of the strains was a consequence of the season.

We can conclude that the Latosol red-yellow soil, from where these microorganisms were isolated, has a strong proteolytic capacity, since this reaction is very strong in a maximum limit of sixteen days during the spring season.

Consequently, this soil has one of the most importante characteristics of fertility.

The role of the Actinomycetes in the soil is so important of the soil microflora.

7. — LITERATURA CITADA

- 1 — BALDACCI, E., G. F. Comaschi, T. Scotti and C. Spalla 1953 — General criteria for the systematics of genera and species of Actinomycetes (*Streptomyces*) and *Micromonospora*, Symposium Actinomycetales, morfologia, biologia e sistemática, VI Congresso Internazionale di Microbiologia, p. 36.
- 2 — WAKSMAN, S. A. 1916 — Bacteria, actinomycetes and fungi in the soil, *J. Bact.*, **1**: 101.
- 3 — WAKSMAN, S. A., and R. E. Curtis 1918 — The occurrence of actinomycetes in the soil, *Soil Sci.*, **6**: 309-319.
- 4 — WAKSMAN, S. A. 1950 — The Actinomycetes, *Annales Cryptogamici et Phytopathologici*, vol. 9, Waltham, Mass. U. S. A., publ. by Chronica Botanica Co., p. 134.

