

ANALISE DA GERMINAÇÃO DE SEMENTES DE ALFACE INOCULADAS COM LIOFILIZADO DE EXTRATO DE LEVEDURAS

Robson Martini de Meda^{1*}; Bianca Pierina Carraro¹.

¹Centro Universitário Assis Gurgacz, Colegiado de Agronomia, Cascavel, Paraná.

^{1*}robson_martini@hotmail.com

Resumo: É importante à busca métodos alternativos e naturais que venham a auxiliar a agricultura, visando sempre uma melhor manutenção do meio em que as culturas estão estabelecidas. O trabalho teve como objetivo de avaliar germinação das sementes de alface inoculadas com o liofilizado do extrato da levedura *Rhodotorula glutinis*. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 4 repetições por tratamento sendo 4 doses do produto da levedura e a testemunha. As diferentes doses foram: T1 – testemunha (água destilada), T2 – 0,0125 g mL⁻¹, T3 – 0,0250 g mL⁻¹, T4 – 0,0375 g mL⁻¹ e T5 – 0,0500 g mL⁻¹. Foram avaliados porcentagem de germinação (G%), comprimento médio da parte aérea (CPA) e comprimento médio da raiz (CR) e massa seca (MS). Os dados foram resignados à análise de variância, ao teste de Tukey com 5% de significância. Conclui-se então que o liofilizado do extrato da levedura *Rhodotorula glutinis* exerceu influência no comprimento de parte aérea (CPA) e no comprimento de raiz (CR), na concentração de 0,0500 g mL⁻¹ em comparação com a testemunha.

Palavras-chave: *Rhodotorula glutinis*, *Lactuca sativa*, hormônio.

ANALYSIS OF GERMINATION OF LETTUCE SEEDS INOCULATED WITH LYOPHILIZED YEAST EXTRACT

Abstract: It is important to research alternative and natural methods that come to assist farming, always using better maintenance of the environment in which crops they are using. The objective of this work was to evaluate the germination of seeds inoculated with lyophilisate and extracted from *Rhodotorula glutinis* yeast. The experimental design was randomized with 4 replications of treatment, with 4 doses of yeast and control product. The different doses were: T1 - control (distilled water), T2 - 0.0125 g mL⁻¹, T3 - 0.0250 g mL⁻¹, T4 - 0.0375 g mL⁻¹ and T5 - 0.0500 g mL⁻¹. Germination percentage (G%), average shoot length (CPA) and mean root length (CR) and dry mass (DM) were applied. Data were subjected to analysis of variance, Tukey test with 5% significance. It was concluded that the *Rhodotorula glutinis* yeast extractor exerted influence on the shoot length (CPA) and root length (CR), in the concentration of 0.0500 g mL⁻¹ compared to a control.

Keywords: *Rhodotorula glutinis*, *Lactuca sativa*, hormone.

Introdução

O cultivo de hortaliças tem apresentado grande importância econômica em pequenas propriedades da agricultura familiar. A alface (*Lactuca sativa*) tem grande destaque dentre as hortaliças folhosas podendo ser cultivada em diferentes métodos. Independente do método de cultivo empregado é fundamental que as mudas de alface apresentem um desempenho inicial vigoroso, o que é possível através de sementes com alta qualidade. Na busca pela manutenção do potencial fisiológico das sementes métodos alternativos utilizando microrganismos promotores de crescimento vegetal (MPCV) e seus subprodutos tem sido aplicado buscando um sinergismo entre microrganismo-planta-solo.

A alface origina-se de espécies silvestres, ainda encontradas em regiões de clima temperado, no sul da Europa e na Ásia ocidental. É uma planta herbácea, delicada, com caule diminuto, o qual prende as folhas, tendo um sistema radicular ramificado e superficial, explorando apenas os primeiros 25 cm de solo, em semeadura direta, a raiz pivotante pode atingir até 60 cm de profundidade (FILGUEIRA, 2003). Por ser uma planta rápida, em estufa, o ciclo é reduzido, de 45 – 50 dias (FILGUEIRA, 2003), sendo uma folhosa bem aceita pelos consumidores. De acordo com CONAB (2019), a comercialização de alface no mês de março de 2019, foi de aproximadamente 7 toneladas, considerando as principais microrregiões do país. Tendo em vista que a folhosa é consumida *in natura*, se faz necessário diminuir a quantidade de produtos agroquímicos empregados na cultura. Com isso a utilização e produtos naturais se mostra uma alternativa interessante para a manutenção e desenvolvimento da hortaliça.

O uso de produtos naturais com base em microrganismos promotores de crescimento vegetal sob o meio da agricultura tem uma busca constante, visando uma melhor manutenção do solo e dos organismos ali presentes. Do mesmo modo Correa, Galvão e Bettiol (2011), obtiveram controle biológico da podridão radicular causada por *Pythium aphanidermatum* e crescimento do pepineiro cultivado em hidropônia com microrganismos de manguezais. Por outro lado, *Azospirillum* confere tolerância para alface a vírus do grupo Toposvirus, atua também com enraizador e diminui efeitos da larva-minadora com menores doses de nitrogênio (LIMA et al; 2017). Dentre os diversos MPCV, as leveduras se destacam para o desenvolvimento de produtos naturais.

Para Cabrini (2018), leveduras são fungos unicelulares que podem ser encontradas na rizosfera das plantas com número menor que bactérias e fungos filamentosos e por isso pouco se sabe sobre a função neste meio, então pouco são os trabalhos encontrados na literatura

sobre este assunto. Somando a isso Botha (2011), conclui que as leveduras não afetam somente o desenvolvimento microbiano no solo, mas atuam também na formação de agregados do solo e sua manutenção. De mesmo modo, algumas leveduras podem solubilizar fosfatos insolúveis, deixando-os mais disponíveis para as plantas (BOTHÁ 2011; NUTARATAT *et al*, 2014) e (OLIVEIRA, 2016) observou que o isolado de *Torulaspora globosa* teve o melhor resultado para solubilizar fosfato e produção de AIA. A espécie *Rhodotorula glutinis* se mostra com bom potencial na agricultura, sintetiza carotenoides, lipídios e enzimas sendo estes utilizados na indústria farmacêutica, cosmética e alimentar (HERNANDEZ-ALMANZA *et al*; 2013), se mostra redutora da microtoxina patulina resumida por *Penicillium expansum* em maçã onde limita a ação do patógeno (CASTORIA *et al*; 2005), identificado por (FRANÇA *et al*; 2015) que a *R. glutinis* pode ser uma alternativa promissora para o controle de *Colletotrichum sp*; em pós colheita na cultura do pimentão, e controle de *Penicillium digitatum* causador do bolor verde nas laranjas (ZHENG *et al*, 2005). E de acordo com Heling *et al*; (2016) verificaram que a *R. glutinis* reduz a severidade do cretamento bacteriano em 53,70%. Somando a isso Carvalho (2017) concluiu que a *R. glutinis* pode reduzir a severidade do cretamento bacteriano comum no feijoeiro e também atua como indutor de crescimento, em plantas, além de auxiliar na proteção contra possíveis patógenos presentes no ambiente.

Tendo base nas evidências de potencial de bioatividade das leveduras e suas aplicações com subprodutos na agricultura, o objetivo deste trabalho é analisar a germinação das sementes de alface inoculadas com liofilizado de extrato de levedura *Rhodotorula glutinis*.

Material e Métodos

O experimento foi conduzido no laboratório de Sementes da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, em Cascavel, Paraná, nos meses de maio a outubro de 2019.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado (DIC), com cinco tratamentos, contendo quatro repetições com 100 sementes cada, totalizando 400 sementes por tratamento. Os tratamentos foram: T1 – testemunha (água destilada), T2 – 0,0125 g mL⁻¹, T3 – 0,0250 g mL⁻¹, T4 – 0,0375 g mL⁻¹ e T5 – 0,0500 g mL⁻¹ de liofilizado de levedura.

As sementes de alface crespa da variedade *Grand rapids* foram adquiridas comercialmente em pacotes de 8 g, com aproximadamente 7.000 sementes.

O isolado da levedura *Rhodotorula glutinis*, foi cedido pelo Laboratório de Fitopatologia da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Marechal Cândido Rondon e com seu devido registro no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), A85CDA9. O isolado foi preservado em tubos de ensaio contendo meio ágar-GYMP (20 g glicose, 20 g extrato de malte, 5 g extrato de levedura, 2 g fosfato de sódio monobásico e 20 g de ágar), coberto com óleo mineral estéril e mantido em refrigeração a 6° C.

Para produzir o filtrado, a levedura foi cultivada em meio YEPG líquido, contendo 10 g de extrato de levedura, 20 g de peptona, 20 g de glicose, 1000 mL de água e mantidas em constante agitação (150 rpm) por 10 dias. Em seguida, o meio foi centrifugado a uma rotação de 2000 (rpm) coletando a parte sobrenadante. Em seguida o sobrenadante foi fracionado em 10 ml por frasco, congelado e liofilizado.

As sementes de alface foram submetidas a diferentes tratamentos compostos por uma fração do liofilizado diluído em água. As sementes foram colocadas em sacos plásticos e tratadas com 1 mL da dose de cada tratamento, agitadas por 1 min, colocadas para secar na sombra, em seguida foi montado cada teste para cada dose.

O teste de germinação foi realizado com o auxílio de caixas plásticas do tipo Gerbox com duas folhas de papel Germitest umedecidas em água destilada com 2,5 vezes o peso do papel, acondicionadas em câmara de germinação a 20°C por 7 dias (BRASIL; 2009). Foram avaliados os parâmetros: porcentagem de germinação (G%), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento médio da parte aérea (CPA), comprimento médio da raiz (CR), massa fresca (MF) e massa seca (MS).

Os dados foram submetidos à análise de variância, ao teste de Tukey com 5% de significância. As variáveis que apresentaram diferença significativa foram submetidas à análise de regressão polinomial utilizando o programa Sisvar (FERREIRA, 2011).

Resultados e Discussões

Dentre as variáveis analisadas na Tabela 1, a porcentagem de germinação (%G) se destacou no tratamento 2 (0,0125 g mL⁻¹) mostrando 100% da germinação das sementes de alface, porém, não obteve diferença estatística em nenhum dos tratamentos, quando comparado a testemunha.

Para o índice de velocidade de germinação (IVG), os tratamentos também não demonstraram diferença significativa, uma vez que quanto maior os valores, maior é a velocidade de germinação das sementes de alface. Porém, no presente trabalho as doses utilizadas não obtiveram diferença quando comparado a testemunha.

Tabela 1 - Valores médios obtidos para porcentagem de germinação (%G), índice de velocidade de germinação (IVG), comprimento médio de parte aérea (CPA), comprimento médio de raiz (CR), massa fresca (MF) e massa seca (MS).

Tratamentos	G (%)	IVG	CPA (cm)	CR (cm)	MF (g)	MS (g)
T1 – Água	99,50	70,530	1,165 a	1,255 a	0,615	0,0712
T2 – 0,0125	100	61,567	1,177 a	1,177 a	0,557	0,0720
T3 – 0,0250	98,75	60,787	1,270 a	1,427 a	0,600	0,0695
T4 – 0,0375	99,50	63,847	1,450 ab	1,527 ab	0,619	0,0760
T5 – 0,0500	98,00	65,332	1,827 b	2,042 b	0,672	0,0700
CV% -	1,13	9,20	13,03	17,76	12,66	7,14
DMS -	2,44	12,94	0,39	0,59	0,16	0,01

Nota: Medias seguida da mesma letra não diferem entre os tratamentos pelo teste de Tukey a 5% de significância.

CV – Coeficiente de variação %.

DMS – diferença mínima significativa.

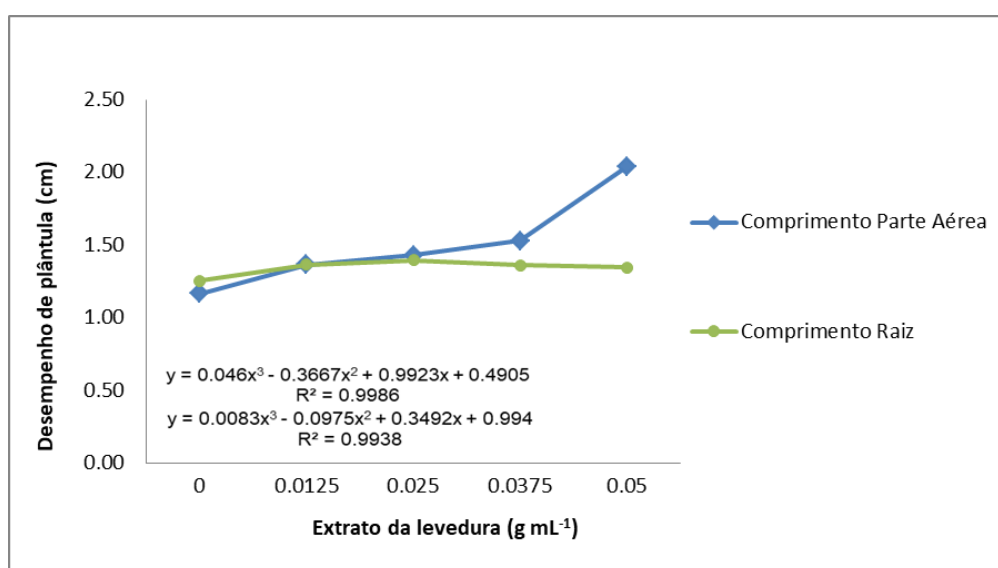
Para as variáveis massa fresca (MF) e massa seca (MS) os extratos não resultaram em diferença significativa quando comparados à testemunha, mantendo as médias dos tratamentos próximas ao peso da testemunha.

As sementes de alface tratadas com as doses 0,0375 g mL⁻¹ e 0,050 g mL⁻¹ do extrato da levedura apresentaram os valores 1,450 cm e 1,827 cm, respectivamente referentes ao comprimento da parte aérea (CPA). A dose 0,0375 g mL⁻¹ não diferiu estatisticamente da água, e das doses 0,0125 g mL⁻¹ e 0,0250 g mL⁻¹, porém a maior dose (0,050 g mL⁻¹) revelou diferença significativa quando comparada aos demais tratamentos. Essas diferenças são notórias conforme análise de regressão para esse parâmetro apresentada na Figura 1. Trabalho realizado por Gray e Smith (2005), mostra que a síntese de fito-hormônios por leveduras pode auxiliar o crescimento e desenvolvimento de plantas. Em estudo feito por Xin, Glawe e Doty (2009) mostraram que as leveduras *Rhodotorula graminis* e *Rhodotorula mucilaginosa*, produziram auxinas *in vitro*.

Com relação à variável comprimento de raiz (CR), o tratamento 5 (0,050 g mL⁻¹) foi o de maior destaque entre as médias analisadas, assemelhando-se estatisticamente ao tratamento 4. Sendo o tratamento 5 com 2,042 cm o maior valor de comprimento de raiz (CR)

apresentando diferença estatística também entre os tratamentos. Trabalho realizado por Nassar, EL-Tarabily e Silvasithamparam (2005), identificaram que a levedura *Williopsis saturnus* produz ácido indolacético (AIA) *in vitro* e promoveu o desenvolvimento dos brotos e raízes de plântulas de milho. Complemento a isso Oliveira (2016), testou linhagens de leveduras (*Torulaspora globosa*, *Trichosporon asahii*, *Rhodoturola mucilaginosa* e *Meyerozyma guilliermondii*) para o desenvolvimento de tecido vegetal avaliando *in vitro* a síntese de ácido indolacético e solubilização de fosfato.

Figura 1 - Análise de regressão demonstrando que os parametros CPA e CR, obtiveram resultado sigficativo do 0,050 g mL⁻¹



Entre os extratos utilizados a aplicação de 0,050 g mL⁻¹ apresentou os maiores valores para IVG, CPA e CR. O que indica a presença de hormônios no extrato da levedura em estudo.

Como sugestão para futuros trabalhos é válido destacar, que o liofilizado pode ser utilizado em diferentes métodos como, em cultivos diretos no solo, produção de mudas e aplicação foliar, para maiores análises e estudos da levedura em destaque no presente trabalho.

Conclusões

Diante dos dados apresentados no trabalho, conclui-se que a dose $0,050 \text{ g mL}^{-1}$ do extrato exerceu influência nas sementes e plântulas de alface em relação a testemunha, com maior destaque para comprimento de parte aérea (CPA) e comprimento de raiz (CR).

Referências

- BOTHA, A. The importance and ecology of yeasts in soil. **Soil Biology & Biochemistry** v. 43, p. 1-8, 2011.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. 2009.
- CABRINI, P. G. **Promoção de crescimento de cultivares de alface pela levedura rizosférica *Torulaspora globosa***. 2018. Dissertação (mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados) – Universidade Federal de São Carlos, Araras.
- CARVALHO, J. F. **Manejo do cretamento bacteriano comum em feijoeiro por *Rhodotorula glutinis* E *Sporidiobolus johnsonii***. 2017. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon.
- CASTORIA, R.; MORENA, V.; CAPUTO, L.; PANFILI, G.; DE CURTIS, F.; DE CICCIO, V. Effect of the Biocontrol Yeast *Rhodotorula glutinis* Strain LS11 on Patulin Accumulation in Stored Apples. **Phytopathology**. v. 95, n. 11, p. 1271-1278, 2005.
- CONAB, **Boletim Hortigranjeiro**, v. 5, n. 4. 2019.
- CORREA, E. B.; GALVÃO, J. A. H.; BETTIOL, W. Controle biológico da podridão radicular e promoção de crescimento em pepino hidropônico com microrganismos de manguezais. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. v. 46, n. 2, p. 130-136, 2011.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, 2011.
- FILGUEIRA, F. A. R. **Novo Manual de Olericultura: agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças** – Viçosa, UFV, 2000.
- FRANÇA, G. S.; COSTA, R. R.; NEVES, R. P.; ARAUJO, E. R.; LARANJEIRA, D. Controle Pós-colheita da Antracnose do pimentão pela levedura *Rhodotorula glutinis*. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 2, p. 451-459, 2015.
- GRAY, E. J.; SMITH, D. L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signaling processes. **Soil Biology and Biochemistry**, v.37, p.395-412, 2005.
- HELING, A. L.; KUHN, O. J.; STANGARLIN, J. R.; HENKEMEIER, N. P.; CARVALHO, J. C.; LORENZETTI, E. Controle do cretamento bacteriano comum na cultura do feijoeiro, mediado por leveduras. In: **Congresso de Ciências Agrárias da UNIOESTE**, 8. 2016, Marechal Candido Rondon-PR. Anais. VIII SECIAGRA, p. 200-205, 2016.
- HERNÁNDEZ-ALMANZA, A.; MONTANEZ, J. C.; AGUILAR-GONZÁLEZ, M. A.; MARTÍNEZ-ÁVILA, C.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; AGUILAR, C. N. *Rhodotorula glutinis* as source of pigments and metabolites for food industry. **Food Bioscience**, v. 5, p. 64-72, 2013.

LIMA, A. A.; VENTUROSIO, L. R.; SILVA, B. A. A.; GOMES, A. F.; SCHIMIDT, O. Eficiência da inoculação de *Azospirillum brasilense* associado com enraizador no crescimento e na produção de alface. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável** v. 12, n. 2, p. 233-240, 2017.

NASSAR, A.; EL-TARABILY, K.; SIVASITHAMPARAM, K. Promotion of plant growth by an auxin-producing isolate of the yeast *Williopsis saturnus* endophytic in maize (*Zea mays* L.) roots. **Biology Fertility Soils**, v. 42, p. 97-108, 2005.

NUTARATAT, P.; SRISUK, N.; ARUNRATTIYAKORN, P.; LIMTONG, S. Plant growth-promoting traits of epiphytic and endophytic yeasts isolated from rice and sugar cane leaves in Thailand. **Fungal Biology** v. 118, n. 8, p. 683-694, 2014.

OLIVEIRA; T. B. **Leveduras produtoras de AIA e solubilizadoras de P visando a promoção de crescimento de tomateiro**. 2016. Dissertação (mestrado em Produção Vegetal e Bioprocessos Associados) – Universidade Federal de São Carlos, Araras.

XIN, G.; GLAWE, D.; DOTY, S. L. Characterization of three endophytic, indole-3-acetic acid-producing yeasts occurring in *Populus* trees. **British Mycological Society, Mycological Research**, v. 113, p. 973-980, 2009.

ZHENG, X. D.; ZHANG, H. Y.; SUN, P. Biological control of postharvest green mold decay of oranges by *Rhodotorula glutinis*. **European Food Research and Technology**. v. 220, n. 2, p. 353-357, 2005.