

# **PRODUÇÃO DE AMILASE POR ACTINOBACTÉRIAS DO SOLO E SERAPILHEIRA DE UMA UNIDADE DE CONSERVAÇÃO NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

Jessica Barros Arrais Cruz Lopes (1); Valéria Maria Araújo Silva (2); Suzana Cláudia Silveira  
Martins (3) Claudia Miranda Martins (3)

*Universidade Federal do Ceará 1. Graduanda na Universidade Federal do Ceará (jessicalopes1992@hotmail.com). 2.  
Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais (mariavaleria@yahoo.com.br) 3.  
Professora Universidade Federal do Ceará (suzanac@ufc.br) 3. Professora Universidade Federal do Ceará  
(claudiamartins@ufc.br)*

## **INTRODUÇÃO**

A serapilheira é a camada formada pela deposição e acúmulo de matéria orgânica morta em diferentes estágios de decomposição que reveste superficialmente o solos, sendo a principal via de retorno de nutrientes (AZEVEDO COSTA *et al.*, 2007). Na serapilheira e no solo se encontram as actinobactérias, micro-organismos de grande importância industrial e biotecnológica, pela sua produção de metabólitos secundários tais como enzimas e antibióticos (LAM *et al.*, 2006), e ecológica, devido a sua interação com outros micro-organismos e plantas presentes no solo (SILVA, 2016). De acordo com Cavalcante *et al.* (2016), a produção de enzimas extracelulares é uma vantagem evolutiva desses micro-organismos pois permite a utilização de uma maior gama de substratos.

A produção de amilase representa 25-33% da produção de enzimas no mundo, ocupando segundo lugar (NGUYEN *et al.*, 2002). Por ter uma estrutura mais simples, o amido pode ser mais acessível para os micro-organismos (SILVA, 2016). A  $\alpha$ -amilase é muito importante na indústria e sua estrutura é completamente conhecida, cuja principal função é degradar o grão de amido intacto (SARIKAYA *et al.*, 2000).

A ciclagem dos compostos presente no solo é fundamental para manutenção dos ciclos biogeoquímicos e para a disponibilidade de nutrientes em especial em ambiente semiárido onde os solos são pobres em matéria orgânica e nitrogênio (LEMOS *et al.*, 2010). Diante da importância das actinobactérias para o ambiente semiárido, o objetivo desse estudo foi avaliar a produção da enzima amilase entre actinobactérias oriundas do solo e da serapilheira da Estação Ecológica de Aiuaba, localizada em região semiárida.

## METODOLOGIA

Foram utilizadas 59 cepas de actinobactérias obtidas da Estação Ecológica de Aiuaba (EEA) esta localizada a sudoeste da cidade de Aiuaba, nas coordenadas geográficas (6° 40' S & 40° 10' W), e cobre uma área de 11,525 ha. O clima dessa região é quente e semiárido com temperatura média anual que varia acima de 26°C e com vegetação caracterizada pelas fisionomias caatinga e carrasco (LEMOS; MEGURO, 2010). Em relação as cepas 20 são provenientes do solo (Ac 8, Ac 9, Ac 19, Ac 21, Ac 23, Ac 24, Ac 31, Ac 32, Ac 36, Ac 46, Ac 49, Ac 50, Ac 54, Ac 55, Ac 56, Ac 57, Ac 58, Ac 59, Ac 60, Ac 61) e 39 são provenientes da serapilheira (Ac 1, Ac 2, Ac 3, Ac 4, Ac 5, Ac 6, Ac 7, Ac 10, Ac 11, Ac 12, Ac 13, Ac 14, Ac 15, Ac 16, Ac 17, Ac 18, Ac 20, Ac 22, Ac 25, Ac 26, Ac 27, Ac 28, Ac 29, Ac 30, Ac 33, Ac 34, Ac 35, Ac 37, Ac 38, Ac 40, Ac 41, Ac 42, Ac 43, Ac 44, Ac 45, Ac 47, Ac 48, Ac 51, Ac 53). O meio utilizado para o teste amilolítico foi Ágar-amido que apresenta a seguinte composição para 1000 mL de água destilada: peptona (10g), extrato de carne (3g), NaCl (5g), amido (2g) e ágar (15g) com pH 6,5-7,1.

O meio foi inoculado em *spot* utilizando quatro quadrantes e em duplicata. Após a inoculação, as placas foram incubadas a 28° na B.O.D. por 10 dias. A revelação foi feita com 10 mL de solução de lugol, 1g de iodo e 2g de iodeto de potássio em 300 mL de água, deixando agir durante um minuto. O lugol cora o meio com uma tonalidade de azul escuro. A presença de um halo claro (Figura 1) ao redor da colônia indica atividade positiva para a produção de amilase.

O índice enzimático (IE) foi calculado dividindo-se o diâmetro do halo (Dh) pelo diâmetro da colônia (Dc):  $IE = \frac{Dh}{Dc}$  (FLORENCIO *et al*, 2012). Cepas que mostraram IE maior que 2 foram consideradas potencialmente produtoras da enzima (SILVA *et al*, 2015).

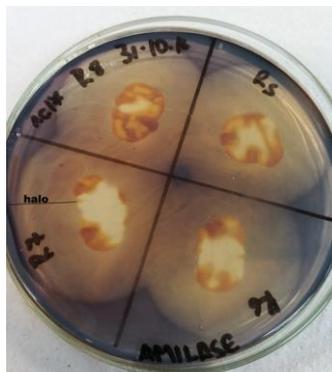


Figura 1: Placa com meio de amido onde se pode observar a atividade positiva da cepa de actinobactéria para produção de amilase.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 59 actinobactérias utilizadas, 58 apresentaram halo de degradação, sendo a cepa Ac 29 a única que não hidrolisou o amido (Figura 2).

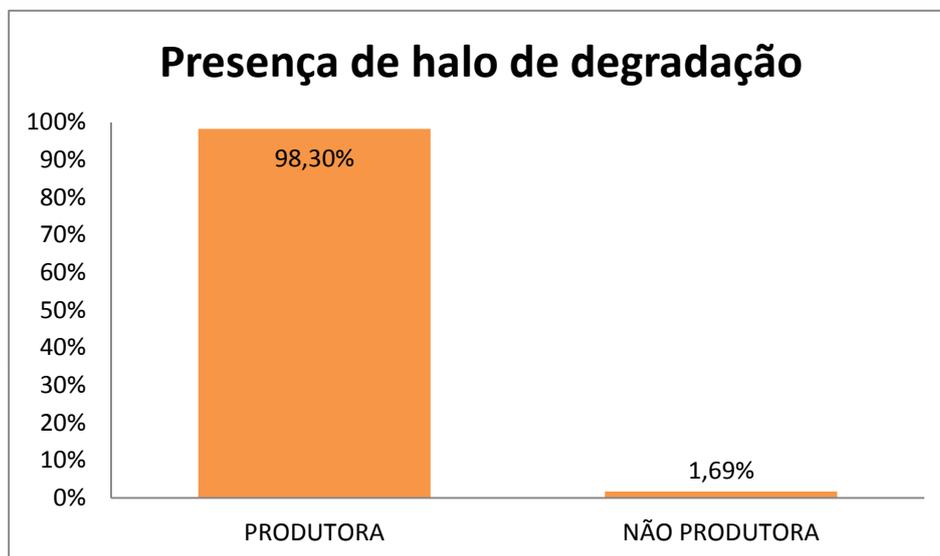


Figura 2: Porcentagem de actinobactérias produtoras e não produtoras de amilase.

Essa alta taxa de produção de amilase, também relatada por Silva (2016) que analisou 27 cepas de actinobactéria e apenas 4 não apresentaram atividade amilolítica, fato que pode estar relacionado com a abundância desse polissacarídeo no solo, por ser o principal composto de reserva das plantas e importante fonte de energia para vários outros organismos (AMARAL *et al*, 2007) . Segundo Silva *et al.* (2015), as actinobactérias podem ser classificadas em relação a produção de enzima como cepas fortemente produtoras ( $IE \geq 2$ ), cepas moderadamente produtoras ( $1,5 \leq IE < 2$ ), cepas fracamente produtoras ( $1 < IE < 1,5$ ) e não produtoras (ausência de halo de hidrólise). Assim, das 59 cepas de actinobactérias, 23 são fortemente produtoras ( $IE \geq 2$ ) (AC's 4,7,12,13,17,20,21,22,23,25,26,27,28,31,32,35,36,38,45,46,49,57,58), 24 são moderadamente produtoras  $1,5 \leq IE < 2$  (AC's 1,2,3,8,9,10,15,16,18,19,30,33,37,40,43,47,48,50,53,54,55,56,60,61) e 8 são fracamente produtoras  $1 < IE < 1,5$  (AC's 6,11,14,24,34,41,42,59), como mostrado na figura 3.

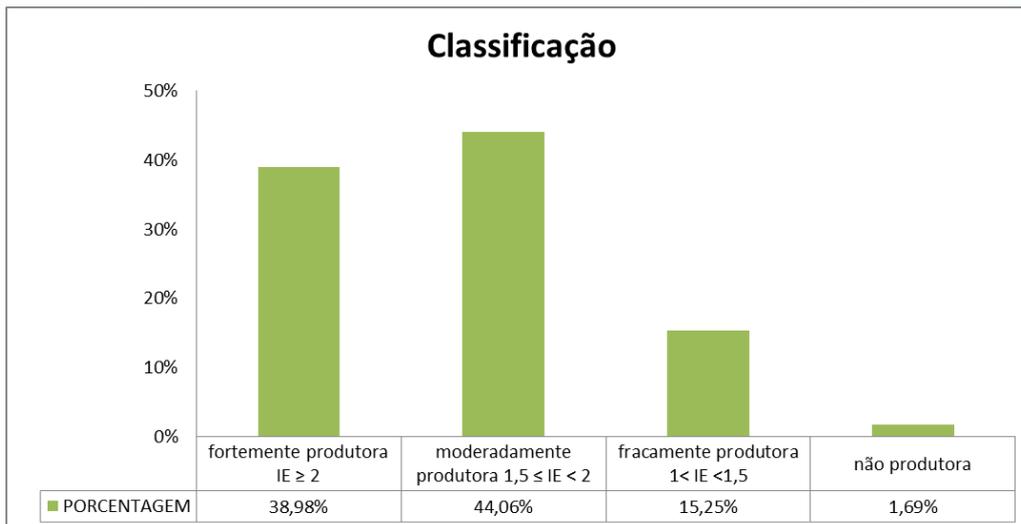


Figura 3: Classificação das cepas de actinobactérias quanto à produção de amilase.

Em relação às cepas oriundas do solo 45% apresentaram  $IE > 2$  e 35,89% das actinobactérias da serapilheira tiveram  $IE > 2$ . Duas cepas destacaram-se com o índice enzimático superior a 3, a Ac 36 proveniente do solo e Ac 38 da serapilheira. A maior presença de cepas produtoras no solo pode indicar maior atividade microbiana nesse habitat (Figura 4), pois a presença de serapilheira influencia positivamente na disponibilidade de nutrientes no solo. Ao avaliarem a atividade microbiana em solos com e sem serapilheira Carvalho *et al.* (2008) observaram uma maior atividade biológica em solos com serapilheira.

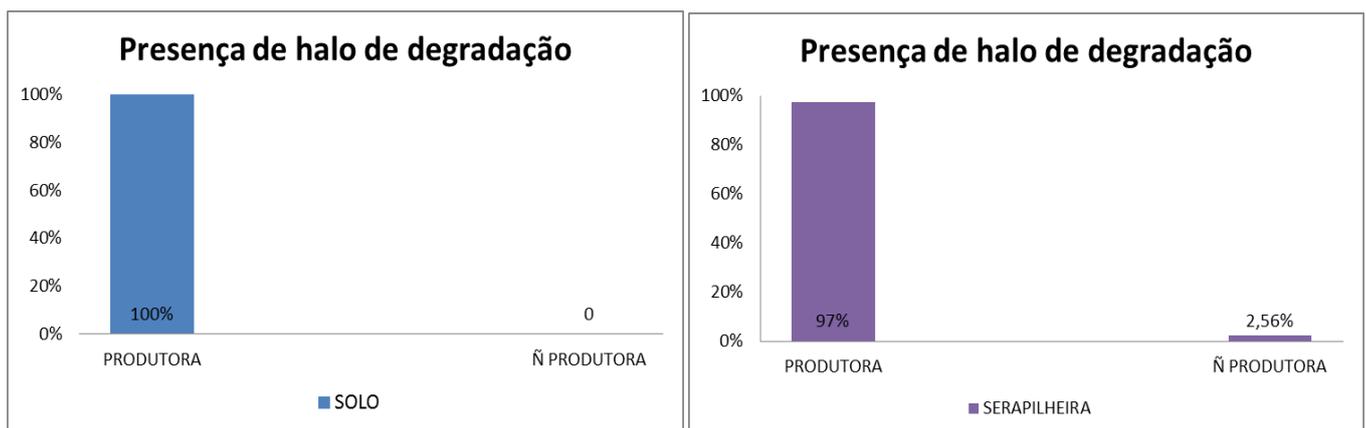


Figura 4: Porcentagem de actinobactérias produtoras de amilase no solo e na serapilheira.

## CONCLUSÃO

As actinobactérias oriundas do solo tiveram maior produção enzimática do que as oriundas da serapilheira. As actinobactérias coletadas na Estação Ecológica de Aiuaba apresentaram relevante atividade amilolítica.

## REFERÊNCIAS

- AMARAL, L. D., *et al.* **Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais.** *Hoehnea*, 34(4), 425-431.
- AZEVEDO COSTA, C. C. *et al.* **Produção de serapilheira na Caatinga da Floresta Nacional do Açu-RN.** *Revista Brasileira de Biociências*, v. 5, n. S1, p. pg. 246-248, 2007.
- CARVALHO, A. M. X. *et al.* **Atividade microbiana de solo e serapilheira em áreas povoadas com *Pinus elliottii* e *Terminalia ivorensis*.** *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, v. 32, 2008.
- CAVALCANTE, F.G. *et al.* **Atividade lipolítica de cepas de actinobactérias isoladas de solos do semiárido.** In: I Conidis, Campina Grande, 2016.
- FLORENCIO, C. *et al.* **Correlation between agar plate screening and solid-state fermentation for the prediction of cellulase production by *Trichoderma* strains.** *Enzyme research*, v. 2012, 2012.
- LAM, K. S. *et al.* 2006. **Discovery of novel metabolites from marine actinomycetes.** *Current Opinion in Microbiology*, 9: 245-251.
- LEMOS, J. R.; MEGURA, M. **Florística e fitogeografia da vegetação decidual da Estação Ecológica de Aiuaba, Ceará, Nordeste do Brasil.** *Revista Brasileira Biociências*, v. 8, p. 34-43, 2010.
- NGUYEN, Q. D. *et al.* **Purification and characterisation of amyolytic enzymes from thermophilic fungus *Thermomyces lanuginosus* strain ATCC 34626.** *Enzyme Microbiology Technology*, v. 31, n. 3, p. 345-352, 2002.
- SARIKAYA, E. *et al.* **Comparison of degradation abilities of  $\alpha$ -and  $\beta$ -amylase on raw starch granules.** *Process Biochemistry*, v. 35, n. 8-9, p. 711-715, 2000.
- SILVA, V. M., Martins, C. M., Martins, S. C. S. (2015). **Atividade celulolítica de actinobactérias de região semiárida do Ceará.** *Enciclopédia Biosfera*, 11, 2026-2036.
- SILVA, V. M. A. **Facilitação pode incrementar a capacidade de adaptação de actinobactérias e rizóbios" in vitro" (Tese de Doutorado).** Fortaleza, 2016.