

ATIVIDADE CELULOLÍTICA DE ACTINOBACTÉRIAS DE SOLO DO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

Gustavo Henrique da Silva Albuquerque¹, Francimeire do Nascimento Costa², Sandara Nadja Rodrigues Brasil², Valeria Maria Araújo Silva² & Suzana Cláudia Silveira Martins³

¹Pós-Graduação em Ciência do Solo, Universidade Federal do Ceará. ghsa_rn@yahoo.com.br; ²Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Ceará. francimeirecosta@gmail.com; sandarab@hotmail.com; mariavaleria@yahoo.com.br; ³Professora Doutora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, CE, suzanac@ufc.br

RESUMO

Actinobactérias compreendem um grupo de bactérias que se assemelham a fungos, capazes de colonizar diferentes ambientes, sendo dominantes no solo rizosférico, onde produzem metabólitos e estabelecem relações com os vegetais. 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. Diante da importância das actinobactérias para o ambiente semiárido, o objetivo desse estudo foi avaliar a produção da enzima celulase por actinobactérias isoladas de solo semiárido do Brasil. Foi observada atividade celulolítica em 82,5% das cepas analisadas para este estudo. Apenas nas cepas AQ31, AQ37 e AQ45 não foi observado formação do halo de degradação para celulase. As cepas AQ 27, AQ46 e AQ48 apresentaram os maiores valores do índice enzimático celulolítico.

PALAVRA-CHAVE: Celulase; índice enzimático; rizosfera.

1 INTRODUÇÃO

O semiárido brasileiro compreende a maior parcela do nordeste do país e caracteriza-se por vegetação Caatinga e solos ricos em minerais que apresentam heterogeneidade climática, edáfica e vegetativa (KAVAMURA, 2012; SILVA *et al.*, 2015). O clima é caracterizado pelos baixos índices pluviométricos, geralmente abaixo de 800 mm anuais, concentrados em apenas um período do ano e associado à elevada evapotranspiração (GORLACH-LIRA; COUTINHO, 2007; SILVA *et al.*, 2015).

A Caatinga é a vegetação predominante no domínio semiárido do Brasil, um dos ambientes mais ricos em biodiversidade (MMA, 2016). Porém, a diversidade de microrganismos presente no solo ainda é pouco conhecida e explorada (SOARES Jr *et al.*, 2012). Atualmente é conhecida a predominância de actinobactérias entre os microrganismos presentes no solo desse domínio fitogeográfico (KAVAMURA, 2012).

Actinobactérias são bactérias compostas por micélios, que podem apresentar morfologia cocóide, cocobacilo, filamentosa e ramificada assemelhando-se a fungos (OLMOS *et al.*, 2013). Estes micro-organismos são capazes de colonizar diferentes ecossistemas (OSHONE *et al.*, 2013). No solo, estão presentes na rizosfera (STROBEL *et al.*, 2004), onde produzem compostos metabólicos e estabelecem relação simbióticas com as plantas influenciando no crescimento vegetal (CONTI *et al.*, 2012; SADEGHI *et al.*, 2012). São importantes na ciclagem de biomateriais, produzindo enzimas extracelulares que degradam compostos orgânicos recalcitrantes, atuando para o equilíbrio ecológico do ambiente (VASCONCELLOS 2008), são fixadoras de nitrogênio e

(83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

produtoras de hormônios e enzimas que auxiliam na sobrevivência, crescimento e proteção de vegetais (CONTI *et al.*, 2012; BRITO *et al.*, 2015). Portanto, as actinobactérias desempenham funções importantes para vegetação de ambientes extremos, como os da região semiárida.

A celulase é uma enzima de interesse, que atua na ciclagem de nutrientes, ou seja, catalisa a hidrólise da celulose constituinte da matéria orgânica do solo (FIORETTO *et al.*, 2001; SILVA *et al.*, 2015). A celulose é um polissacarídeo complexo sendo o principal constituinte dos vegetais (SILVA; MARTINS; MARTINS, 2015), e microrganismos produtores de celulases são importantes na natureza no ciclo do carbono (RUEGGER; TAUK-TORNISIELO, 2004). Celulases também apresentam interesse industrial pelo seu valor de mercado e por serem fontes de diferentes substâncias comerciais por bioconversão enzimática (KUHADET *et al.*, 2011; MOHANTA, 2014).

Diante da importância das actinobactérias para o ambiente semiárido, o objetivo desse estudo foi avaliar a produção da enzima celulase por actinobactérias isoladas de solo semiárido do Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas 24 cepas de actinobactérias do banco de cepas do Laboratório de Microbiologia Ambiental – LAMAB/UFC, coletadas no município de Quixadá – Ceará, região semiárida do Nordeste brasileiro. As cepas isoladas foram codificadas com a denominação AQ, enumeradas de 27 a 50 e testadas segundo protocolo para atividade celulolítica (HANKIN; ANAGNOSTAKIS, 1977).

Posteriormente, foram determinados os perfis enzimáticos, cujas cepas foram caracterizadas quanto à determinação do índice enzimático (IE) celulolítico utilizando-se a seguinte equação: $IE = D_h/D_c$ (HANKIN; ANAGNOSTAKIS, 1977), onde D_h representa o diâmetro do halo e D_c é o diâmetro da colônia.

Para este estudo, foi considerada a escala de classificação para actinobactérias utilizada por Silva *et al.* (2015) e Silva; Martins; Martins (2015), na qual cepas fortemente produtoras de celulase apresentam $IE \geq 2$, cepas moderadamente produtoras expressam o IE entre $1,5 \leq IE < 2$, cepas fracamente produtoras $1 < IE < 1,5$ e na ausência do halo de hidrólise são consideradas não produtoras.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando a versão GraphPad Prism 5,00 (GraphPad Software*, San Diego, CA). A análise de variância dos dados ocorreu de acordo com o perfil dos resultados obtidos a partir das médias de cada conjunto de dados. Para cada conjunto de dados do ensaio enzimático foi realizado o teste de normalidade Shapiro-Wilk. Os dados que seguiram o padrão de distribuição normal foram analisados através de uma ANOVA fator único, enquanto que os dados que não seguiram uma distribuição normal foram avaliados pelo teste não paramétrico Kruskal-Wallis. Ambos os testes foram utilizados para comparar as médias dos IE dos grupos bacterianos.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A região mais clara ao redor das colônias representa o halo indicador da degradação. Nas cepas AQ31, AQ37 e AQ45 não foi observado formação do halo de inibição para celulase, resultando em 87,5% (21) de cepas positivas para produção de celulase. Esse resultado é semelhante ao encontrado por Silva; Martins; Martins (2015), que avaliaram o diâmetro do halo como indicador da atividade celulolítica em actinobactérias. Os autores encontraram 21 cepas positivas para produção de celulase (75% das cepas analisadas).

Os valores do índice enzimático celulolítico das cepas de actinobactérias variaram de 0,00 (zero) (AQ31, AQ37 e AQ45) a $2,73 \pm 0,32$ (AQ48) (Figura 1). As cepas AQ48, AQ46 e AQ27 apresentaram os maiores índices enzimáticos celulolíticos, cujos valores foram de $2,73 \pm 0,32$;

2,61±0,30 e 2,52±0,29, respectivamente. Estes resultados não se diferem pelo teste de Scott-Knott a 1% de probabilidade.

Como estudos sobre a atividade celulolítica de actinobactérias do semiárido nordestino são ainda muito escassos, os resultados obtidos foram comparados com actinobactérias isoladas de outros ambientes. Assim, Behera *et al.* (2014) avaliaram o IE da celulase de 15 cepas de actinobactérias de um mangue na Índia e os valores obtidos variaram de 1,25 a 1,82. Silva; Martins; Martins (2015) observaram que o valor do índice enzimático celulolítico de 17 cepas variou de 1,18 a 6,90, e que 60,7% dessas cepas foram classificadas como produtoras de celulase.

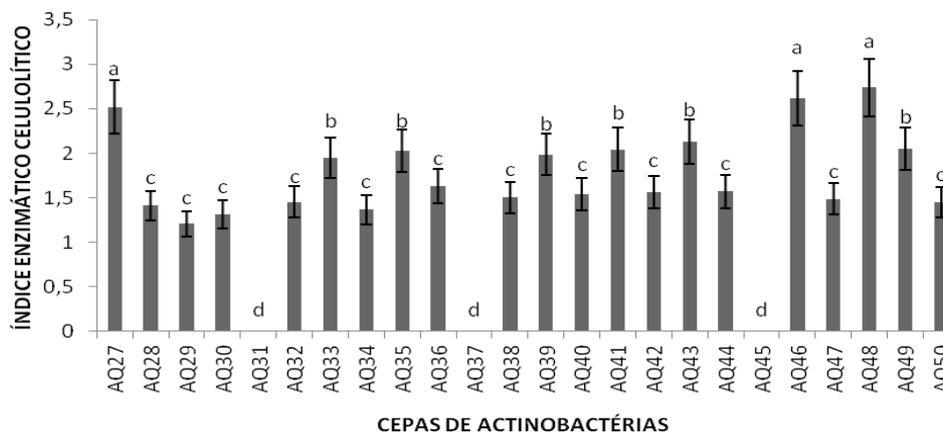


Figura 1. Índice enzimático celulolítico de cepas de actinobactérias isoladas do município de Quixadá, localizado no semiárido do Ceará. Os valores representam a média de quatro repetições ± desvio padrão (CV=11,9%). Médias seguidas pela mesma letra minúscula entre as diferentes cepas de actinobactérias, não diferem pelo teste de Scott-Knott a 1% de probabilidade.

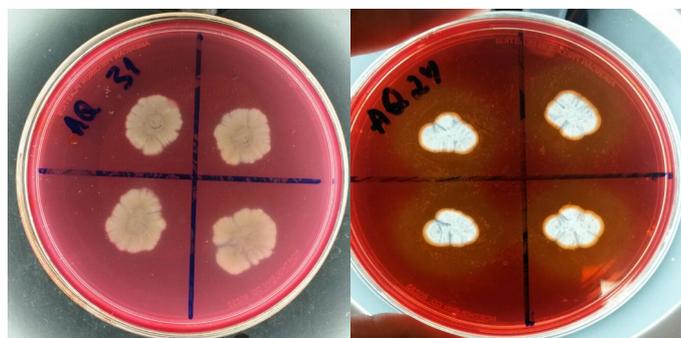


Figura 2. Característica da colônia com atividade celulolítica. Cepa AQ31 não apresentou halo de inibição para celulase e cepa AQ27, que apresentou um dos maiores IE = 2,52.

Neste ensaio, o percentual de 87,5% das cepas foram produtoras de celulase. O mesmo foi observado por Silva *et al.* (2015), no qual um percentual de 75% das cepas foram produtoras de celulase. A alta porcentagem de produção de enzimas observada para este estudo confere importância na utilização ecológica das cepas avaliadas, uma vez que enzimas como a celulase são fundamentais no estabelecimento da simbiose intracelular entre leguminosas e bactérias diazotróficas (BERTHELOT; DELMOTTE, 1999).

Segundo o parâmetro estabelecido para a atividade celulolítica, 25% das cepas apresentaram-se como fortemente produtoras (IE > 2,0), 20,83% como moderadamente produtoras

($1,5 < IE < 2,0$), enquanto 41,6% foram fracamente produtoras ($1,0 < IE < 1,5$). As que não apresentaram halo de inibição, classificando-se como não produtoras ($IE = 0$), representaram 8,33% do total das cepas (Figura 5). Trabalhando com cepas isoladas de uma região da caatinga cearense, Silva *et al.* (2015) observaram 35,7% das cepas fortemente produtoras de celulase ($IE \geq 2$), 25,0% cepas moderadamente produtoras ($1,5 \leq I.E < 2,0$), enquanto 14,3% das cepas fracamente produtoras ($1,0 \leq IE < 1,5$) e 25,0% das cepas não são produtoras de celulase ($IE = 0$).

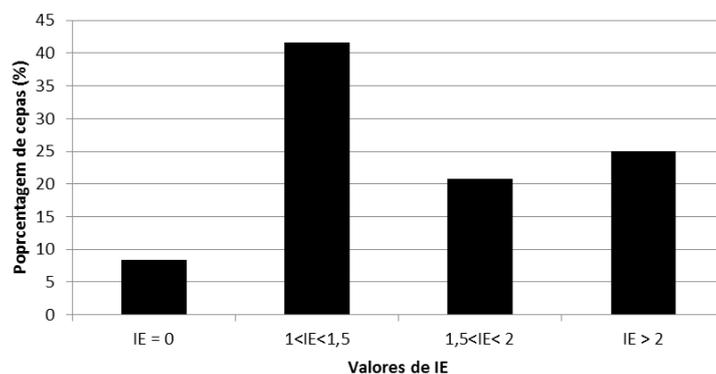


Figura 5. Porcentagem de produção de celulase relacionada ao Índice Enzimático para as cepas de actinobactérias coletadas do solo do município de Quixadá – CE.

4 CONCLUSÃO

As cepas coletadas do solo de Quixadá-CE revelaram-se como boas produtoras de celulase, sendo as cepas AQ27, AQ46 e AQ48 as que apresentaram os maiores índices enzimáticos.

Bibliografia

BEHERA, B.C., PARIDA, S., DUTTA, S.K., THATOI, H.S., 2014. Isolation and identification of cellulose degrading bacteria from mangrove soil of Mahanadi River Delta and their cellulose production ability. **American Journal of Microbiological Research** 2, 41-46.

BRASIL/MMA. Ministério do Meio Ambiente, 2016. Caatinga. Disponível: <http://www.mma.gov.br/biomas/caatinga>. Acesso: 28 jun. 2016.

BRITO, F. A. E.; RAMOS, K. A.; SILVA, R. M.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. 2015. Actinobactérias do Solo Rizosférico do Bioma Caatinga. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer. Goiânia, v. 11, p. 1992-2004.

CONTI, R.; GUIMARÃES, D. O.; PUPO, M. T. Aprendendo com as interações da natureza: microrganismos simbiotes como fontes de produtos naturais bioativos. **Ciência e Cultura**, v. 64, p. 43-47.

FIORRETO, A.; PAPA, S.; SORRENTINO, G.; FUGGI, A. 2001. Decomposition of *Cistus incanus* leaf litter in a Mediterranean maquis ecosystem: mass loss, microbial enzyme activities and nutrient changes. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 33, p. 311-321.

- GORLACH-LIRA, K., COUTINHO, H. D. M. 2007. Population dynamics and extracellular enzymes activity of mesophilic and thermophilic bacteria isolated from semi-arid soil of Northeastern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.38, p. 135-141.
- HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S.L. 1977. Solid media containing carboxymethylcellulose to detect cellulase activity of microorganisms. **Journal of General Microbiology**, v. 98, p. 109-115.
- KAVAMURA, V.N., 2012. Bactérias associadas as cactáceas da Caatinga: promoção de crescimento de plantas sob estresse hídrico. Tese (Doutorado). Piracicaba, ESALQ.
- KUHADET, R. C., GUPTA, R., SINGH, A. Microbial cellulases and their industrial applications. **Enzyme Research**, p. 1-10, 2011.
- MOHANTA, Y. K. Isolation of cellulose-degrading actinomycetes and evaluation of their cellulolytic potential. **Bioengineering and Bioscience**, v.2, n.1, p. 1-5, 2014.
- OLMOS, E.; MEHMOOD, N.; HAJ HUSEIN, L.; GOERGEN, J. L.; FICK, M.; DELAUNAY, S. 2013. Effects of bioreactor hydrodynamics on the physiology of *Streptomyces*. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 36, p. 259-272.
- OSHONE, R.; MANSOUR, R. S.; TISA, L. S. 2013. Effect of salt stress on the physiology of *Frankia sp* strain Ccl6. **Journal of biosciences**, v. 38, p. 699–702.
- RUEGGER, M. J. S., TAUK-TORNISIELO, S. M. 2004. Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, p. 205-211.
- SADEGHI, A.; KARIMI, E.; DAHAZI, P. A.; JAVID, M. G.; DALVAND, Y.; ASKARI, H. 2012. Plant growth promoting activity of an auxin and siderophore producing isolate of *Streptomyces* under saline soil condition. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 1503-1509.
- SILVA, V. M. A.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. 2015. Atividade Celulolítica de Actinobactérias de Região Semiárida do Ceará. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 11, p. 2026-2036.
- SILVA, V. M. A.; BRITO, F. A. E.; RAMOS, K.A.; SILVA, R. M; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. 2015. Atividade Enzimática de Actinobactérias do Semiárido. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 08, p. 560-572.
- SOARES Jr, F.L.; MELO, I.S., DIAS, A.C.F.; ANDREOTE, F. D., 2012. Cellulolytic bacteria from soils in harsh environments. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, p. 2195-2203.
- STROBEL, G.; DAISY, B.; CASTILLO, U.; HARPER, J. 2004. Natural products from endophytic microorganisms. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 257-268.



VASCONCELLOS, R. L. F. 2008. Actinobactérias da risosfera de *Araucaria angustifolia* com potencial biotecnológico. (Dissertação – Mestre em Agronomia). Universidade de São Paulo, Piracicaba.