

EFEITO DO FOGO SOBRE A ATIVIDADE CELULOLÍTICA DE ACTINOBACTÉRIAS DO SEMIÁRIDO

Franciandro Dantas dos Santos (1); Livanio Cruz dos Santos (1); Valéria Maria Araújo Silva (1); Suzana Claudia Silveira Martins (2); Claudia Miranda Martins (2)

*1*Estudante do curso de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Ceará [1 androdsantos@gmail.com](mailto:androdsantos@gmail.com) [1 santos.bio.79@gmail.com](mailto:santos.bio.79@gmail.com) [2 valm.biosilva@gmail.com](mailto:valm.biosilva@gmail.com) *2* Professora Doutora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará [2suzana220@gmail.com](mailto:suzana220@gmail.com) [2 claudia.miranda.martins@gmail.com](mailto:claudia.miranda.martins@gmail.com)

Introdução

A região do semiárido nordestino é caracterizada por condições físicas limitantes, principalmente em relação ao clima quente e seco, que delimita as características bióticas típicas deste ambiente (ARAÚJO, 2011). Estudos realizados nessa região destacam a presença de micro-organismos denominados actinobactérias (LINS; ARAÚJO, 2011; LIMA *et al.*, 2014; LIMA *et al.*, 2017).

Actinobactérias são colonizadoras dominantes no solo e produtoras de compostos bioativos como enzimas e antibióticos (SILVA *et al.*, 2013). Essa produção exige o uso de substâncias orgânicas para obtenção de energia, e o solo é rico em macromoléculas, dentre as quais celulose e amido, que não são imediatamente acessíveis a essas bactérias.

A celulose é polissacarídeo constituinte da matéria orgânica do solo (FIORETTO *et al.*, 2001), compreendendo de 20% a 50% da biomassa das plantas, sendo degradada pela enzima celulase, produzida por micro-organismos como as actinobactérias (LYND *et al.*, 2002; SOARES *et al.*, 2010; SILVA *et al.*, 2015). Entretanto, a celulose possui difícil degradação e a presença de enzimas microbianas extracelulares capazes de degradar biopolímeros de estrutura complexa torna-se relevante para repor nutrientes fundamentais no ecossistema (IRFAN *et al.*, 2012).

A diversidade microbiana e sua abundância constituem um elemento essencial para a compreensão dos impactos das perturbações ambientais e antropogênicas no funcionamento do solo (NANNIPIERI *et al.*, 2007). Dentre essas perturbações destacam-se as queimadas, pois submetem o solo e a comunidade edáfica a um regime crítico de Estresse.

A ação do fogo pode ocasionar uma série de modificações na natureza física, química e biológica dos solos. Segundo Meirelles (1990), o fogo provoca mudanças pontuais ou definitivas na temperatura superficial do solo, no teor de umidade e na disponibilidade de água e nutrientes para as plantas. Entretanto, estudos indicam a predominância de actinobactérias após incêndios em áreas

florestais (RODRÍGUEZ *et al.*, 2014; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2017). Sendo assim, a existência de comunidades microbianas com capacidade de sintetizar enzimas hidrolíticas, como celulase, pode auxiliar em processos de recuperação natural de solos no semiáridos após queimadas.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar *in vitro* o efeito do fogo sobre a atividade celulolítica de cepas de actinobactérias provenientes de solos do semiárido.

Metodologia

As amostras de solo de onde foram isoladas as cepas de actinobactérias foram cedidas pelo Centro Nacional de Prevenção e Combate a Incêndios Florestais (Prevfogo). A área de estudo pertence a Fazenda Normal, localizada no município de Quixeramobim no Estado do Ceará (5°07'12,1" S e 39°10'33,3" W). A coleta foi realizada em 1 ha de área, isolada por um faixa de 3 metros sem vegetação em dois períodos, antes do fogo e depois do fogo, numa profundidade de 0-20 cm.

Na coloração de Gram, utilizou-se uma lâmina, contendo uma gota de cada isolado de actinobactéria ressuspensa e, com o auxílio de uma alça de inoculação, foi feito um esfregaço, que depois de seco e fixado na chama, foi coberto durante 1 minuto com solução de cristal violeta. Em seguida, utilizou-se lugol, água corrente e álcool 95° GL para lavagem do esfregaço, que por fim, foi coberto com solução de fucsina básica por 30 segundos. As lâminas foram visualizadas em microscópio óptico a um aumento de 1000x.

Para avaliação da produção da enzima celulase cada cepa foi inoculada na forma de *spots* e em quadruplicata, em placas de Petri contendo meio de cultura sólido estéril (CMC) e incubadas a 28° C em B.O.D. por um período de 10 dias. Esse meio foi suplementado com carboximetilcelulose, como única fonte de carbono. Após a incubação foi adicionado ao meio 10 mL de solução de vermelho Congo a 0,5% em cada placa, deixando-se agir por 15 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, o excesso da solução foi drenado e 10 mL de solução de NaCl (1M) foram adicionados em cada placa, deixando-se agir por 30 minutos a temperatura ambiente. A atividade celulolítica foi avaliada a partir do cálculo do índice enzimático (IE), considerando-se a seguinte equação: $IE = Dh/Dc$. Sendo Dh, o diâmetro em milímetros (mm) do halo de hidrólise e Dc o diâmetro em milímetros (mm) da colônia das actinobactérias (FLORÊNCIO *et al.*, 2012).

Resultados e Discussão

De acordo com os dados obtidos foi possível dividir as 30 cepas de actinobactérias em 04 grupos distintos considerando seu potencial em degradar celulose. O primeiro grupo contém 10 cepas que não apresentaram halo de hidrólise classificado como não produtoras de celulase (Figura 1). O segundo grupo é representado pela cepa QB95 com índice enzimático (IE) igual a 1,27, classificado como fracamente produtora de celulase. O terceiro grupo conta com 03 cepas de actinobactérias com índice enzimático maior que 2,0, variando seus IE's de 2,0 a 2,5 e, consequentemente classificadas como fortemente produtoras de celulase. E por fim, o quarto grupo é formado por 16 cepas de actinobactérias com índice enzimático menor que 2,0, com variação de 1,2 a 1,84 em seus IE's e, portanto, classificadas como moderadamente produtoras de celulase. As cepas foram divididas nessas categorias de acordo com a classificação proposta por Silva *et al.*, (2015).

Do total de 30 cepas, 07 cepas (46,6%) não apresentaram potencial para atividade celulolítica. Silva *et al.* (2015) encontraram 7 cepas (25%) que não possuíam atividade celulolítica. Por outro lado, mesmo perante a ação do fogo, duas cepas (QB48 e QB 060) apresentaram índice enzimático >2, isso pode estar relacionado à capacidade de adaptação desses organismos quando expostas ao Estresse oriundo do aumento da temperatura.

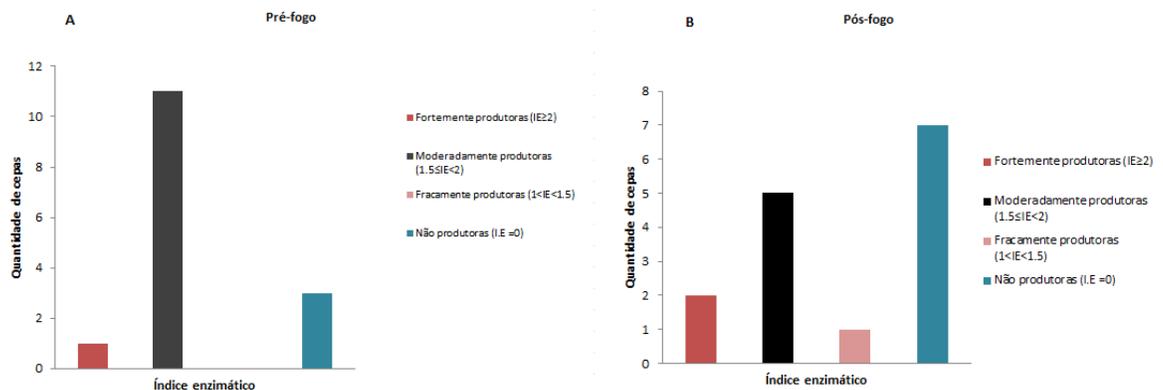


Figura 1. Categorização do índice enzimático da atividade celulolítica de actinobactérias em solo procedente de região semiárida de Quixeramobim - CE.

Silva *et al.* (2015) trabalhando com 27 cepas de actinobactérias oriundas de solo rizosférico do Parque Nacional de Ubajara (PNU) no Estado do Ceará, observaram que 75% apresentaram halo indicador de atividade celulolítica com índice enzimático variando entre 1,18 e 6,90, diferindo dos resultados aqui encontrados, visto que as cepas apresentaram índice enzimático na faixa de 1,27

a 2,56 (Figura 2). Entretanto, pode-se constatar que mesmo quando submetidas à ação do fogo, as actinobactérias presentes no solo ainda apresentaram cepas fortemente produtoras de celulase, como as QB48 e QB60. Fato semelhante foi evidenciado no trabalho de Fernández-González *et al.*, (2017) que utilizaram cepas de actinobactérias de solo rizosférico tratado com fogo originárias do Parque Natural e Nacional de Sierra Nevada, na Espanha. Esses autores constataram que a maioria das cepas selecionadas foi tolerante à dessecação e apresentou uma grande habilidade para degradar polímeros orgânicos *in vitro*. Por outro lado, foi observado no presente trabalho que nas amostras pré-fogo apenas uma cepa (QB64) apresentou índice enzimático igual a 2,56, superando os valores das demais.

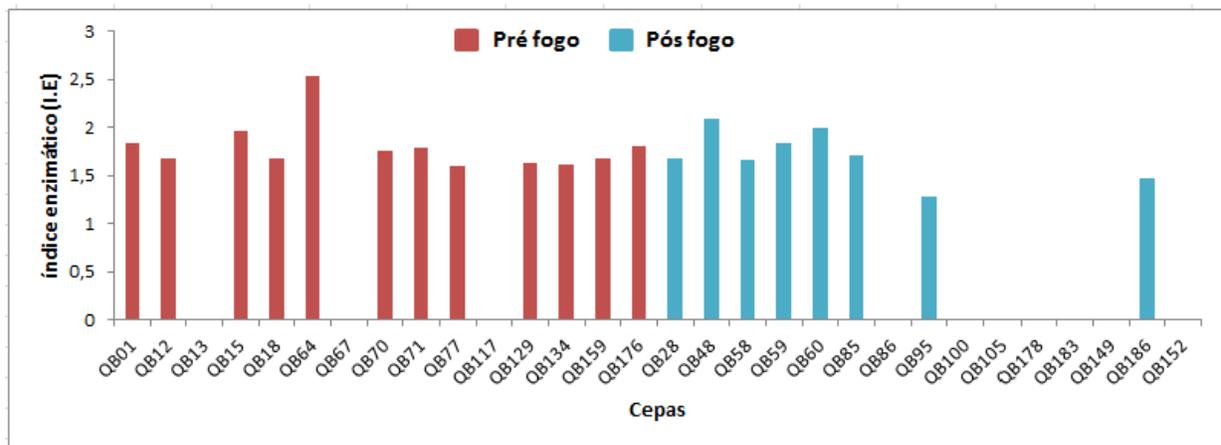


Figura 2. Índice enzimático da atividade celulolítica de actinobactérias antes e depois do tratamento com fogo em solo procedente de região semiárida de Quixeramobim - CE.

Conclusões

Do total de cepas analisadas vinte apresentaram atividade celulolítica *in vitro*. Dentre estas, duas foram classificadas como fortemente produtoras de celulase mesmo após a ação do fogo. Sendo assim, conclui-se que a ação do fogo eliminou cepas mais sensíveis de actinobactérias e selecionou as cepas mais resistentes.

Referências

- ARAÚJO, S. M. S. **A região semiárida do nordeste do Brasil: Questões ambientais e possibilidades de uso sustentável dos recursos.** Revista Eletrônica-Revista Científica da FASETE, 5, 2011.
- FÉRNANDEZ-GONZÁLEZ A. J. *et al.* **The rhizosphere microbiome of burned holm-oak: potential role of the genus *Arthrobacter* in the recovery of burned soils.** Scientific Reports, v.7, n. 6008, 2017.
- FIORETTO, A., *et al.* **Decomposition of *Cistus incanus* leaf litter in a Mediterranean maquis ecosystem: mass loss, microbial enzyme activities and nutrient changes.** Soil Biology and Biochemistry, 2001.
- 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.
- IRFAN, M., *et al.* **Isolation and screening of cellulolytic bacteria from soil and optimization of cellulase production and activity.** Turkish Journal of Biochemistry, v. 37, 2012.
- LIMA, J. V. L. *et al.* **Populações microbianas cultiváveis do solo e serrapilheira de uma unidade de conservação no semiárido brasileiro.** Enciclopédia Biosfera, v. 10, 2014.
- LIMA, J. V. L. *et al.* **Characterization of actinobacteria from the semi-arid region, and their antagonistic effect on strains of rhizobia.** African Journal of Biotechnology, v. 16, 2017.
- LINS, C. V.; ARAÚJO J. M. 2011. **Isolamento de actinobactérias da rizosfera de plantas nativas da caatinga.** XIX Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, 1-4.
- LYND, L.R., *et al.* **Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology.** Microbiology and Molecular Biology Reviews, v. 66, 2002.
- MEIRELLES, M. L. **Efeito do fogo sobre a umidade do solo em área de campo sujo de cerrado.** Ciência e Cultura, São Paulo, v. 42, n. 7, p. 359-360. MONTEIRO, R. T. "Indicadores da qualidade do solo." *Agrociência* 9.1-2 (2005), 1990.
- NANNIPIERI, P., *et al.* **Microbial diversity and microbial activity in the rhizosphere.** *CienciadelSuelo*, 25, 2007.
- RODRÍGUEZ, J. *et al.* **Effect of wildfires on the genetic microbial diversity in forest soils from Canary Islands (Spain).** FLAMMA, v. 5, n.1, 2014. *Ciência Florestal*, Santa Maria, v. 21, n. 2, 2011.
- SILVA, *et al.* **Atividade Celulolítica de Actinobactérias de Região Semiárida do Ceará.** Enciclopédia Biosfera, v. 11, n. 21, 2015.
- SILVA, *et al.* **Atividade Enzimática de Actinobactérias do Semiárido.** *Revista Brasileira de Geografia Física*, v. 8, 2015.
- SILVA, *et al.* **Brazilian cerrado soil actinobacteria ecology.** *BioMed Research International*. 2013.
- SOARES, A.C.F., *et al.* **Isolados de estreptomicetos no crescimento e nutrição de mudas de tomateiro.** *Pesquisa Agropecuária Tropical*, v. 40, 2010.