

EFEITO DO FOGO SOBRE A ATIVIDADE AMIOLÍTICA DE ACTINOBACTÉRIAS DE REGIÃO SEMIÁRIDA DO CEARÁ

Valéria Maria Araújo Silva¹; Franciandro Dantas dos Santos²; Claudia Miranda Martins³; Suzana Cláudia Silveira Martins⁴

¹*Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Ceará – UFC. mariavaleria@yahoo.com.br.* ²*Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais, Universidade Federal do Ceará – UFC. androsantos@gmail.com.* ³*Professora Doutora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, CE, claudia.miranda.martins@gmail.com.* ⁴*Professora Doutora do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza, CE, suzana220@gmail.com.*

1 - INTRODUÇÃO

A região semiárida brasileira apresenta um mosaico de paisagens, solos e formas de vegetação que a constitui um ambiente bastante peculiar, reservatório de uma riqueza biológica pouco estudada (ARRUDA *et al.*, 2015). Esse ambiente singular sofre pressões naturais, ocasionadas por seu clima, e também antropogênicas, decorrentes principalmente da elevada densidade populacional (CIRILO, 2008).

Os micro-organismos presentes no solos compõe parte integral desse ambiente, desempenhando uma série de funções fundamentais para o fluxo de energia e a circulação de matéria orgânica, sendo, portanto, a principal via pela qual os nutrientes retornam ao sistema, se tornando disponíveis para os demais seres vivos (ALVES *et al.*, 2016; BREZA-BORUTA *et al.*, 2016).

Dentre os grupos de micro-organismos presentes em solos do semiárido brasileiro, destacam-se as actinobactérias (LIMA *et al.*, 2017). As actinobactérias são bactérias Gram-positivas que possuem características morfológicas, fisiológicas e ecológicas diversas e habitam principalmente o solo, onde desempenham papel fundamental na solubilização de compostos orgânicos (ALVES *et al.*, 2016; LIMA *et al.*, 2017). Algumas pesquisas revelam o potencial destas bactérias em sintetizar enzimas hidrolíticas extracelulares, como a amilase, envolvidas em mecanismos de mineralização de nutrientes, assim como em processos de degradação de moléculas de difícil solubilização no solo (MINOTTO *et al.*, 2014; SILVA *et al.*, 2015; ALVES *et al.*, 2016).

Embora o fogo provoque o aumento do pH do solo, diminuição na matéria orgânica e na concentração de ferro (FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2017), estudos indicam a predominância de actinobactérias neste ambiente (RODRÍGUEZ *et al.*, 2014; FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2017). Pouco se sabe sobre as condições para estabelecimento e crescimento de populações microbianas nos solos do semiárido após a ocorrência de queimadas. No entanto, a ocorrência de

um distúrbio pode alterar a composição de espécies microbianas no solo e promover a facilitação para o estabelecimento de novas espécies (MARTINS *et al.*, 2016).

Neste sentido, a existência de comunidades microbianas com capacidade de sintetizar enzimas hidrolíticas, como amilase, pode auxiliar em processos de recuperação natural de solos semiáridos após queimadas. Dessa forma, o presente trabalho teve por objetivo investigar os impactos causados pelo fogo na atividade amilolítica de actinobactérias presentes no solo de região semiárida do nordeste brasileiro.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Origem dos micro-organismos

As cepas de actinobactérias utilizadas no presente estudo foram isoladas de amostras de solo coletadas a uma profundidade de 0-20 cm em uma área de 1000 m², isolada por uma faixa de três metros sem vegetação na Fazenda Normal, localizada no município de Quixeramobim (5°07'12,1" S e 39°10'33,3" W), região semiárida do estado do Ceará. Foram selecionadas 30 cepas de actinobactérias, sendo 15 isoladas de amostras de solo coletadas antes da submissão do fogo (QB01, QB11, QB12, QB15, QB18, QB60, QB67, QB70, QB71, QB77, QB117, QB134, QB139, QB149 e QB152) e outras 15 de amostras de solo após a submissão do fogo (QB28, QB48, QB58, QB59, QB64, QB85, QB86, QB95, QB100, QB105, QB159, QB176, QB178, QB183 e QB186).

2.2. Atividade amilolítica

Para avaliar o crescimento e a produção de amilase, as actinobactérias foram inoculadas em forma de *spots*, em quadruplicata, seguida de dois ensaios independentes em meio de cultura Ágar amido (ALARIYA *et al.*, 2013) e incubadas a 28° C em B.O.D. por um período de 10 dias. Após o crescimento das colônias, foram adicionados uma alíquota de 10 mL da solução de Lugol (1% de iodo e 2% de iodeto de potássio) para a revelação das zonas de hidrólise. A produção de amilase foi identificada pela descoloração do meio ao redor de cada colônia indicativo da formação de halos de hidrólise. A atividade amilolítica 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).

2.3. Análise estatística

Para avaliar se houve diferença da atividade enzimática nas actinobactérias de antes e pós-fogo realizou-se o teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade para verificar as diferenças entre as médias.

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 30 cepas de actinobactérias analisadas, o halo indicador de degradação do amido foi observado em 29 (96,7%) das cepas. O índice enzimático (IE) dos dois grupos de actinobactérias avaliadas apresentou uma média geral entorno de 2,8 no grupo pós-fogo e de 2,9 no grupo antes do fogo (Figura 1). Estes valores demonstram pouca variação na atividade amilolítica entre os grupos.

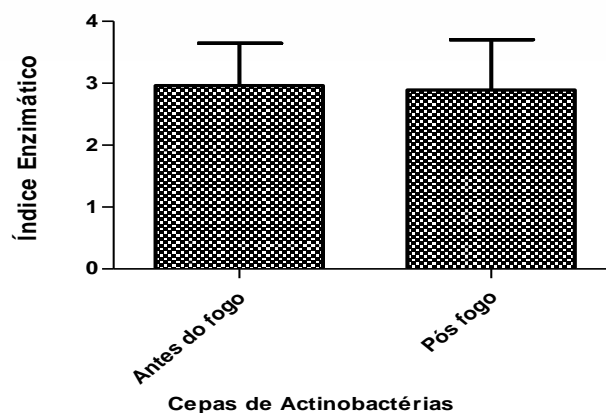


Figura 1: Índice enzimático geral de cepas de actinobactérias isoladas do município de Quixeramobim-Ce em relação a áreas de amostragem.

Na área antes do fogo, a cepa QB01 se destacou pelo maior IE, diferindo das cepas QB11, QB15 e QB70 das amostras antes do fogo, e da QB159 e QB28 das amostras pós-fogo (Figura 2). Enquanto que das cepas pós fogo, as cepas QB85 e QB86 se destacaram pelos maiores valores de IE, diferindo de QB28 e QB159, e QB11, QB15 e QB70 das amostras antes do fogo. Apenas a cepa QB28 (pós-fogo), não apresentou atividade amilolítica. Não houve diferença na produção de amilase entre as cepas antes e depois do fogo (figura 2) teste T, p-valor = 0,936. O fogo, portanto, não afetou a atividade amilolítica. Isso pode ter ocorrido devido ao fato da enzima amilase ser resistente a altas temperaturas, conforme é verificado por CARVALHO *et al.* (2008).

Apesar do fogo provocar uma série de modificações físicas, químicas e biológicas (REDIN *et al.*, 2011), eliminando a matéria orgânica, fonte inicial de energia dos micro-organismos, culminando na perda da capacidade produtiva do solo (ASSAD, 1996) a atividade amilolítica das cepas de actinobactérias antes e depois do fogo demonstrou pouca variação, das 15 cepas isoladas de amostras antes do fogo, 13 (86,6%) foram fortemente produtoras e 2 (13,4%) moderadamente

produtoras de amilase. Nas cepas coletadas pós fogo, 13 (86,6%) foram fortemente produtoras de amilase, uma (6,7%) moderadamente produtora e uma (6,7%) não produziu (figura 3).

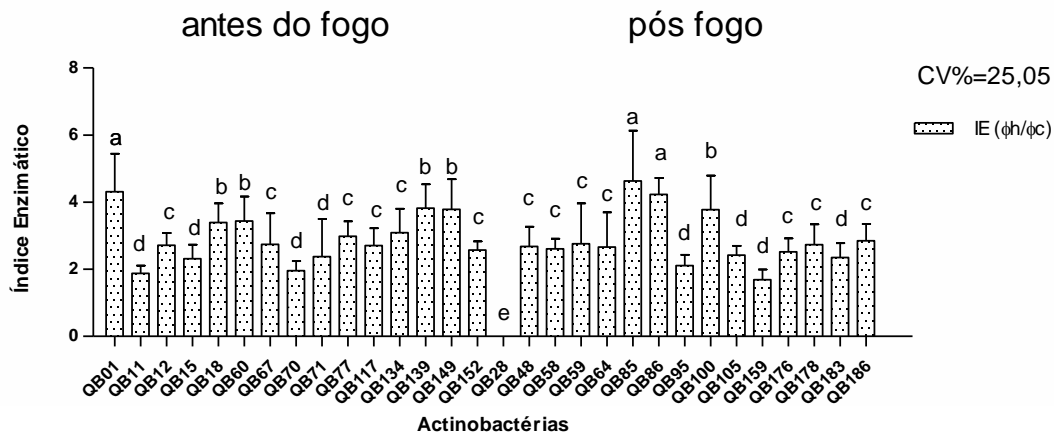


Figura 2: Índice enzimático amilolítico de cepas de actinobactérias isoladas do município de Quixeramobim. Os valores representam a média de duas repetições \pm desvio padrão. Médias seguidas pela mesma letra entre as diferentes cepas de actinobactérias, não diferem pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade.

As actinobactérias apresentaram forte atividade amilolítica, assim como observado por ALVES *et al.* (2016) e SILVA *et al.* (2015) que obtiveram atividade amilolítica em mais de 90% das cepas testadas. As actinobactérias secretam amilases para fora de suas células (JANAKI, 2017), permitindo assim, a degradação de compostos de amido e, dessa forma, contribuindo para mineralização da matéria orgânica do solo (FÉRNANDEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2017).

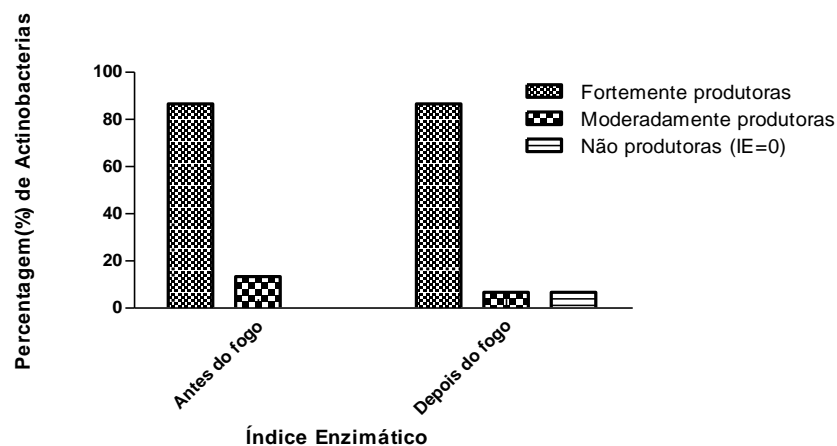


Figura 3: Percentual de atividade das actinobactérias do solo antes e depois do fogo.

Embora a comunidade microbiana dos solos sofra alterações transitórias em sua composição após a presença do fogo, estudos em áreas florestais após eventos de incêndios,

indicam a predominância de actinobactérias com potencial de produção de enzimas hidrolíticas (FÉRNANDEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2017). No presente estudo, a capacidade de síntese de amilases foi mantida pelas cepas de actinobactérias mesmo após a presença do fogo, o que sugere a existência em solos semiáridos de cepas resistentes a drásticas mudanças ambientais ou adaptadas a condições estressantes, característica bastante avaliada por diversos estudos sobre esse grupo microbiano (ZENOVA *et al.*, 2011; MOHAMMADIPANAH; WINK, 2016; FÉRNANDEZ-GONZÁLEZ *et al.*, 2017).

A ação do fogo pode acarretar a seleção de alguns grupos microbianos mais competitivos e favorecer outros microrganismos mais estáveis que vivem no mesmo perfil do solo (MOURA, 2007). Além disso, bactérias do solo requerem poucos nutrientes para o crescimento (SIQUEIRA; FRANCO, 1988) e devido as suas características morfológicas mais simples, permite que elas se adaptem mais rapidamente às modificações ambientais em tempos mais curtos (MOURA, 2007). Nesse sentido, conforme apontado por FÉRNANDEZ-GONZÁLEZ *et al.* (2017), a presença de actinobactérias em ambientes com as características citadas no presente estudo, revelam sua capacidade de suportar elevadas temperaturas e proliferar em solos queimados parcialmente estéreis sob a forma de esporos, conservando assim suas características metabólicas e contribuindo para recuperação natural dessas áreas.

4 - CONCLUSÃO

O fogo não afeta a atividade amilolítica, porém diminui a abundância de actinobactérias afetando a quantidade de amilase produzida.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALARIYA, S. S. *et al.* **Amylase activity of a starch degrading bacteria isolated from soil.** Archives of Applied Science Research, v.5, 2013.
- ALVES, D. A.S. *et al.* **Produção de celulase e amilase por actinobactérias do semiárido brasileiro.** Enciclopédia Biosfera, v.13, n.24, 2016.
- ARRUDA, D. M. *et al.* **Landforms and soil attributes determine the vegetation structure in the Brazilian semiarid.** Folia Geobot, v.50, 2015.
- ASSAD, M. L R. C. L. Recursos biológicos: ocorrência e viabilidade. In: **simpósio sobre cerrado; international symposium on tropical savannas**, Brasília. Planaltina: Embrapa-CPAC, 1996.
- BREZA-BORUTA, B. *et al.* **Variation in biological and physicochemical parameters of the soil affected by uncontrolled landfill sites.** Environmental Earth Sciences, v.75, n.201, 2016.
- CARVALHO, R. V. *et al.* **Otimização das condições de cultivo para a produção de amilases pelo termofílico *Bacillus sp.* e hidrólise de amidos pela ação da enzima.** Ciência e Tecnologia de alimentos, v 28, n2, 2008.

- CIRILO, J. M. **Public Water Resources Policy for the Semi-Arid Region**. Estudos Avançados, v.22, n.63, 2008.
- 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.
- 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.
- JANAKI, T. **Enzymes From Actinomycetes – Review**. International Journal of ChemTech Research, v.10, n.2, 2017
- LIMA, J. V. L. *et al.* **Characterization of actinobacteria from the semiarid region, and their antagonistic effect on strains of rhizobia**. African Journal of Biotechnology, v. 16, n.11, 2017.
- MARTINS, S.C.S. *et al.* **Facilitation as attenuating of environmental Stress among structured microbial populations**. The Scientific World Journal, v. 2016, 2016.
- MINOTTO, E. *et al.* **Enzyme characterization of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants**. Journal of Advanced Scientific Research. v.5, n.2, 2014.
- MOOHAMMADIPANAH. F.; WINK, J. **Actinobacteria from Arid and Desert Habitats: Diversity and Biological Activity**. Frontiers in Microbiology, v. 6, n.1541, 2016.
- MOURA, J. M. de. **Impacto do fogo sobre a microbiota edáfica em diferentes fitofisionomias do pantanal em Mato Grosso**. Dissertação Programa de Pós-graduação em Agricultura Tropical, UFMT. 2007.
- REDIN, M. *et al.* **Impactos da queima sobre atributos químicos, físicos e Biológicos do solo**. Ciência Florestal, v. 21, n. 2, 2011.
- 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.
- SILVA, V. M. A. *et al.* **Enzymatic activity of actinobacteria from semiarid**. Revista Brasileira de Geografia Física, v.08, Número Especial IV SMUD, 2015.
- SIQUEIRA, J. O.; FRANCO, A. A. **Ciências Agrárias nos trópicos brasileiros - Biotecnologia do Solo: Fundamentos e Perspectivas**. Brasília: Ministério da Educação, ABEAS. Lavras: ESAL, FAEPE.1988. 246p.
- ZENOVA, G. M. *et al.* **Extremophilic and Extremotolerant Actinomycetes in Different Soil Types**. Eurasian Soibl Science, v. 44, n. 4, 2011.