

## **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 [androsantos@gmail.com](mailto:androsantos@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 *2* [suzana220@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.

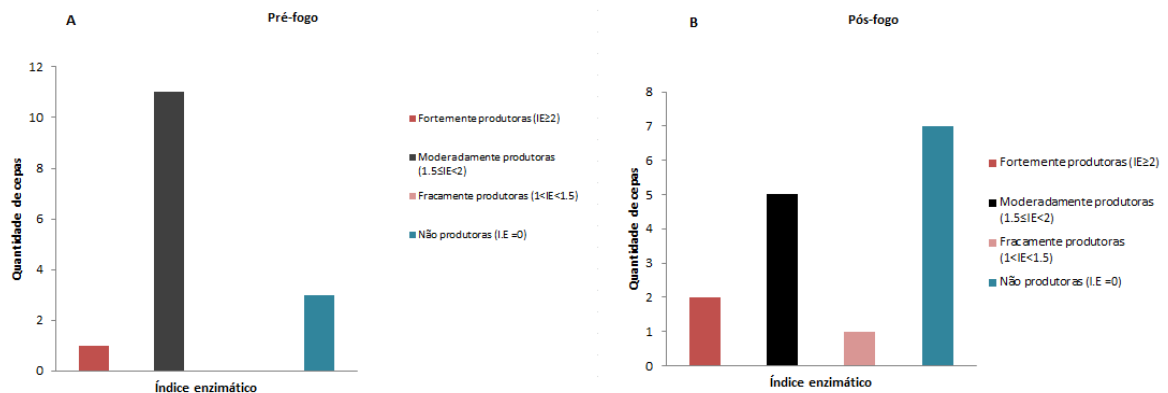
Na coloração de Gram, utilizou-se uma lâmina, contendo uma gota de cada isolado de actinobactéria ressuspensa e, com o auxílio de uma alça de inoculação, foi feito um esfregaço, que depois de seco e fixado na chama, foi coberto durante 1 minuto com solução de cristal violeta. Em seguida, utilizou-se 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, conseqüentemente 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).

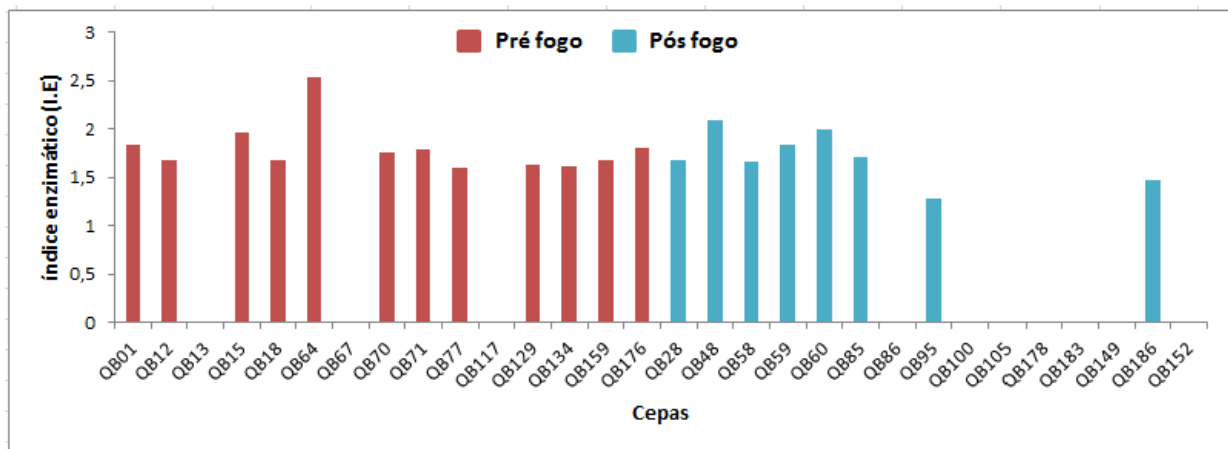
Do total de 30 cepas, 07 cepas (46,6%) não apresentaram potencial para atividade celulolítica. Silva *et al.* (2015) encontraram 7 cepas (25%) que não possuíam atividade celulolítica. Por outro lado, mesmo perante a ação do fogo, duas cepas (QB48 e QB 060) apresentaram índice enzimático >2, isso pode 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.