

Biodiversidade de bactérias cultiváveis isoladas do solo do Jalapão

Karina F. E. N. Santos (PG)*¹, Silvia L. B. Lucio (PG)², Railane M. de Paula¹ (IC), Ingra A. Costa¹ (IC), Jordana Gomes Rocha (IC)¹, Claudia C. G. Martin-Didonet (PQ)¹

e-mail: kabiomol@gmail.com

¹ UEG - Câmpus De Ciências Exatas e Tecnológicas – CCET, BR 153 n°3105 - Fazenda Barreiro do Meio, Anápolis - GO, CEP 75132-903. ² UNB - Instituto de Ciências Biológica – IBD, Asa norte, Brasília – Distrito Federal, CEP 70919-970.

Resumo: A grande biodiversidade presente no bioma Cerrado sugere esta região como uma fonte interessante para a seleção de microrganismos com potencial aplicação industrial. A partir do solo da região de mata inundável do Jalapão foram isoladas 81 bactérias, sendo 32% isoladas em meio YM (semi-seletivo para *Rhizobium* e *Sinorhizobium*) e 32% em meio batata (não semi-seletivo); 11% isoladas em meio SCN (*Actinomicetos*) e 13% em meio King (*Bacillus* e *Pseudomonas*). A capacidade de produção de enzimas extracelulares, como amilase e protease, esteve presente em 36% destas bactérias. Nenhum isolado apresentou a atividade de celulase e lipase. Enzimas produzidas por microbianos são um dos alvos da indústria biotecnológica. Por isso, a caracterização e a identificação de novos isolados bacterianos do solo do Jalapão com capacidade de produzir enzimas são resultados promissores, podendo posteriormente ser utilizado para a formulação de bioprodutos que serão utilizados pela indústria.

Palavras-chave: Microrganismos do solo. Biotecnologia. Cerrado.

Introdução

O isolamento de microrganismos do solo tem sido utilizado como estratégia para selecionar bactérias promissoras, com possíveis aplicações biotecnológicas, pela sua grande população e diversidade (KREMER, 2017). Os microrganismos presentes no solo constituem grande parte da matéria orgânica viva e participa ativamente dos ciclos biogeoquímicos do solo, tendo um importante papel ambiental (MOREIRA; SIQUEIRA, 2006; KREMER, 2017). Na microbiota do solo as bactérias são os organismos mais diversos metabolicamente sendo descritos numerosos efeitos benéficos envolvendo a fixação de nitrogênio, passando pelo balanço de carbono até a ação no controle de doenças fitopatogênicas e solubilização de minerais como fósforo (ESKIN; VESSEY; TIAN, 2014, MOREIRA; SIQUEIRA, 2006,

LIU et al., 2014). A diversidade fisiológica implica na presença de enzimas e vias metabólicas específicas, sendo estas fontes de uma grande variedade de biocompostos, que podem ser fonte de matérias primas para formulação de bioprodutos (SILVA; CARUSO, 2015, KREMER, 2017). Enzimas são o segundo grupo de produtos microbianos mais explorados na indústria biotecnológica com grande tendência de aumento de demanda no mercado mundial (KUMAR et al., 2011).

O Cerrado é considerado um *hotspot* de biodiversidade que abrange cerca de um quarto da área brasileira, sendo o segundo maior bioma da América do Sul (MYERS ET al. 2000). O parque estadual do Jalapão é uma área de proteção brasileira formada pelo bioma Cerrado, localizado na região leste do estado do Tocantins. Há poucas informações a respeito da biodiversidade de microrganismos do Jalapão, e a detecção de bactérias produtoras de enzimas protease, amilase, celulase e lipase podem fornecer a seleção de bactérias promissoras para serem utilizadas em estudos de caracterização e posterior formulação de bioprodutos.

Material e Métodos

Isolamento das bactérias

O solo foi coletado a cerca de 20 cm de profundidade no parque estadual do Jalapão (comunidade quilombola) em uma região de mata de galeria inundável. O solo foi pesado, diluído 1x, agitado a 130 rpm por 30 minutos a 30°C, diluído sequencialmente (até a diluição 10^{-5}) e plaqueado em diferentes meios semi-seletivos: 1) Derxia, 2) King, 3) LGI, 4) LGIP, 5) SCN, 6) Ym, 7) JMV, 8) Meio batata, 9) AAM e 10) NFB-Lactato. As placas foram armazenadas em estufa por 24 - 96 horas.

Capacidade em produzir enzimas extracelulares

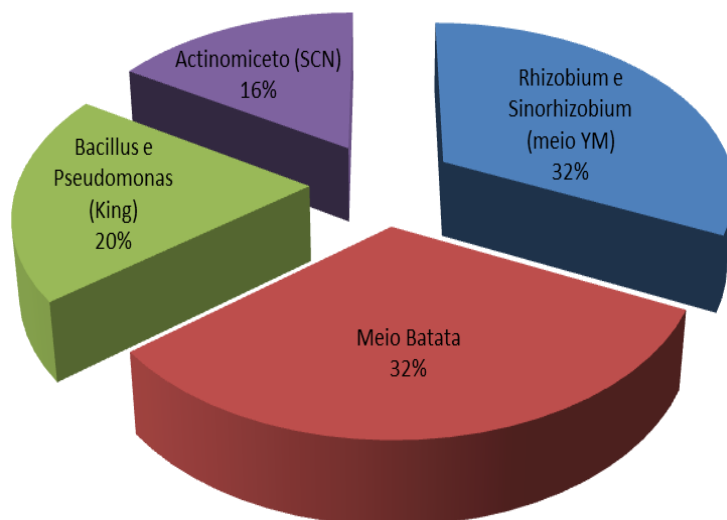
As colônias isoladas foram coletadas e armazenadas em glicerol 30% a -20°C. Estas colônias foram recuperadas em meio líquido por 48 horas e utilizadas para os testes de atividade enzimática. Para isto, foram utilizados os meios sólidos contendo amido, carboximetilcelulose, tween e leite, para as atividades de amilase, celulase, lipase e protease, respectivamente.



Resultados e Discussão

No total foram isoladas 81 bactérias da região de mata de galeria inundável no parque estadual do Jalapão. Dentre essas bactérias, 26 foram isoladas em meio YM (representando 32% do total dos isolados), 26 em meia batata (32% dos isolados), 16 em meio King (20% dos isolados), 13 em meio SCN (16% dos isolados) (Figura 1). O meio YM é semi-seletivo para bactérias do gênero *Rhizobium* e *Sinorhizobium* (VICENT, 1970). Enquanto o meio batata não é semi-seletivo podendo abranger diferentes espécies de bactérias (DÖBEREINER; BALDANI; BALDANI, 1995). Já o meio King é semi-seletivo para *Bacillus* e *Pseudomonas* (DÖBEREINER; BALDANI; BALDANI, 1995) e o meio SCN para *Actinomicetos* (MOREIRA e SIQUEIRA, 2006) (Figura 1). Embora tenha sido testados 10 diferentes meios semi-seletivos, os isolados do Jalapão cresceram apenas em 4. Uma justificativa para este baixo número é o fato de muitos microrganismos não serem facilmente cultiváveis em meio de cultura (JOSEPH et al., 2003).

Figura 1. Bactérias cultiváveis isoladas no parque estadual do Jalapão região de mata de galeria inundável. O provável gênero e os meios semi-seletivos utilizados para cada bactéria estão descritos.

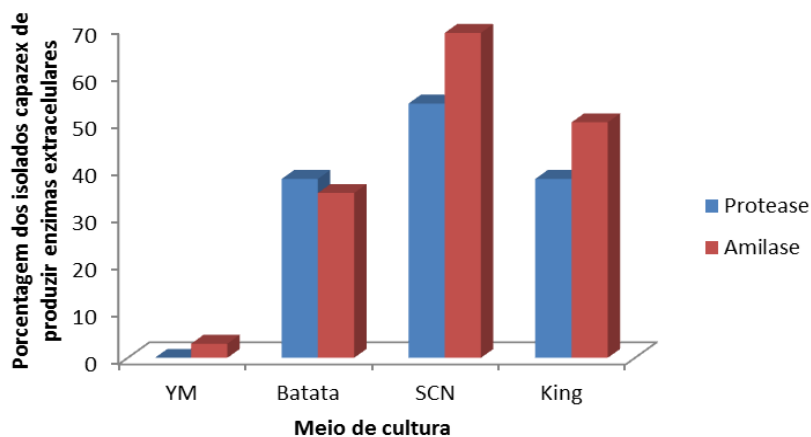


Fonte: O autor



A capacidade de produção de enzimas extracelulares foi presente em 36%, dos 81 isolados. Para o meio SCN mais da metade dos isolados apresentaram atividade de amilase (69%) e protease (54%) (figura 2). Enquanto os isolados do meio King apresentaram 38% de atividade para amilase e 50% de protease (figura 2). Entre os 26 isolados do meio batata, 35% apresentaram atividade de amilase e 38% de protease. A maioria dos isolados em meio YM, não foi capaz de crescer no meio específico para este teste. Apenas 9 isolados (dentre os 26) cresceram nas placas, sendo o isolado Y9 o único positivo para a atividade de amilase (Figura 2). Nenhum isolado foi capaz de degradar lipídio e celulose. A maioria das bactérias capazes de degradar proteína também foi capaz de degradar amido, exceto os isolados Y9, B26, S11, S15, S19, S20, K5 e K12 que apresentaram apenas uma atividade enzimática. As bactérias isoladas a partir do meio batata apresentaram maior atividade proteolítica do que amilolítica. O contrário foi observado para os isolados em meio SCN e King (Figura 2). Esses resultados foram similares ao encontrado para os isolados de raiz de arroz cultivado no Cerrado, que também apresentaram atividade proteolítica e amilolítica (SILVA, 2017). Fernando-Junior e colaboradores (2012) também observaram atividade de amilase para isolados de nódulos de feijão. Estes resultados são de grande relevância, uma vez que a atividade enzimática pode indicar potencial aplicação para fins biotecnológicos na indústria (PANDEY et al. 2000; KIRK; BORCHERT e FUGLSANG, 2002).

Figura 2. Capacidade de produzir enzimas extracelulares dos isolados do Jalapão em meio sólido YM, batata, SCN e King.



Fonte: O autor



Considerações Finais

- O trabalho selecionou 81 isolados bacterianos presentes no parque estadual do Jalapão, região de mata de galeria inundável em uma comunidade quilombola;
- Foi identificada, em 36% dos isolados, a capacidade de produzir enzimas extracelulares (amilase e protease);
- Não foram observadas atividade de lipase e celulase;
- Os isolados do meio SCN apresentaram maior capacidade de produzir enzimas extracelulares;
- Esses resultados sugerem os isolados do Jalapão promissores e com potencial aplicação biotecnológica na indústria.

Agradecimentos

Ao programa de pós-graduação: Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde (CAPS), CCET UEG/Campos Henrique Santillo – Anápolis/GO. Ao suporte financeiro PNPd/CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior e CNPq e bolsa BIP/UEG.

Referências

- DÖBEREINER, J.; BALDANI, V. L. D.; BALDANI, J. I. **Como isolar e identificar bactérias diazotróficas de plantas não-leguminosas**. Itaguaí: EMBRAPA/CNPAB, 1995. 10 p. (EMBRAPA - SPI, Comunicado técnico, 60).
- ESKIN, N.; VESSEY, K.; TIAN, L. Research Progress and Perspectives of Nitrogen Fixing Bacterium, *Gluconacetobacter diazotrophicus*, in Monocot Plants, **International Journal of Agronomy**, p. 1-13, 2014.
- JOSEPH, S.J.; HUGENHOLTZ, P.; SANGWAN, P.; OSBORNE, C.A.; JANSSEN, P.H. Laboratory cultivation of widespread and previously uncultured soil bacteria. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 69, p. 7210-7215, 2003.
- KIRK, O.; BORCHERT, T.V.; FUGLSANG, C.C. Industrial enzyme applications. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 345-351, 2002.
- KREMER, R. J. **Biotechnology Impacts on Soil and Environmental Services**. In: Mahdi M. Al-Kaisi and Birl Lowery, editors, Soil Health and Intensification of Agroecosystems. Oxford: Academic Press. p. 353-375, 2017.

REALIZAÇÃO



- KUMAR, S.; SHARMA, H.K; SARKAR, B.C. Effect of substrate and fermentation conditions on pectinase and cellulase production by *Aspergillus niger* NCIM 548 in submerged (SmF) and solid state fermentation (SSF). **Food Sci Biotechnol.**, v. 20, p.1289–1298, 2011. doi:10.1007/s10068-011-0178-3
- LIU, F. P.; LIU, H. Q.; ZHOU, H. L.; DONG, Z. G.; BAI, X. H.; BAI, P.; QIAO, J. J. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from betel nut (*Areca catechu*) and their effects on plant growth and phosphorus mobilization in tropical soils. **Biology and Fertility of Soils**, v. 50, n. 6, p. 927-937, 2014.
- MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O. **Microbiologia e bioquímica do solo**. Lavras: UFLA, 2006.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R.A.; MITTERMEIER, C.G.; DA FONSECA, G.A.B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853–858, 2000. doi:10.1038/35002501
- PANDEY, A.; NIGAN, P.; SOCCOL, C. R.; SOCOOL, V. T.; SINGH, D.; MOHAN, R. Advances in microbial amylases. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 31, n. 2, p.135-152, 2000.
- SILVA, L. P.; CARUSO, C. S. A metagenômica na busca de enzimas hidrolíticas bacterianas. **Revista Eletrônica Estácio Saúde**, v. 4, n. 2, p. 193-210, 2015.
- SILVA, L.L da. **Caracterização bioquímica e molecular de bactérias associadas a *Oryza sativa* L. Produtoras de biocompostos**. 2017. Dissertação (Mestrado em ciências aplicadas a produtos pra a saúde) - Programa de pós-graduação *Stricto Sensu* (PPG-CAPS), Universidade Estadual de Goiás, Anápolis.
- VICENT, J. M. **Manual for the practical study of root nodule bacteria**. Oxford: Backwell, p.164, 1970.