



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA**  
**CURSO CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

**FILIFE DE ABREU VIEIRA**

**EFEITO DA QUEIMADA SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS HIDROLÍICAS DE  
ACTINOBACTÉRIAS DE REGIÃO SEMIÁRIDA DO CEARÁ**

**FORTALEZA – CE**  
**2018**

FILIPPE DE ABREU VIEIRA

EFEITO DA QUEIMADA SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS HIDROLÍTICAS DE  
ACTINOBACTÉRIAS DE REGIÃO SEMIÁRIDA DO CEARÁ

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cláudia Miranda Martins

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Suzana Cláudia Silveira Martins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

V715e Vieira, Filipe de Abreu.

Efeito da queimada sobre a atividade de enzimas hidrolíticas de actinobactérias de região semiárida do Ceará / Filipe de Abreu Vieira. – 2018.

39 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Ciências Biológicas, Fortaleza, 2018.

Orientação: Profa. Dra. Claudia Miranda Martins .

Coorientação: Profa. Dra. Cláudia Silveira Martins.

1. Microrganismos. 2. Caatinga. 3. Temperaturas elevadas. I. Título.

CDD 570

---

FILIFE DE ABREU VIEIRA

EFEITO DA QUEIMADA SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS HIDROLÍTIICAS DE  
ACTINOBACTÉRIAS DE REGIÃO SEMIÁRIDA DO CEARÁ

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 06/12/2018.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Claudia Miranda Martins (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Suzana Cláudia Silveira Martins  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Me. Fernando Gouveia Cavalcante  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Me. Franciandro Dantas dos Santos  
Universidade Federal de Campina Grande (UFCG)

## RESUMO

O solo garante a provisão de vários serviços ecossistêmicos, possuindo uma rica biodiversidade de microrganismos que interagem de modo a garantir a sua formação. Dentre esses microrganismos, actinobactérias são conhecidas por sua ampla produção de metabólitos secundários com potencial ecológico e biotecnológico. O surgimento de incêndios florestais ou incêndios de origem antrópica, como as queimadas, podem resultar em efeitos negativos na comunidade microbiana do solo levando a degradação do mesmo. Com o intuito de capacitar combatentes contra incêndios e avaliar seus efeitos no ecossistema da Caatinga, o Centro Nacional de Prevenção e Combate a Incêndios Florestais (Prevfogo) realizou junto a Brigada Especializada de Combate a Incêndios Florestais (BRIF/Caatinga) uma simulação de queimada na região semiárida do município de Quixeramobim (Ceará). Amostras de solo foram coletadas antes e após a queimada com intuito de avaliar o efeito da queimada na comunidade de actinobactérias. Foram realizadas a caracterização cultural e atividade das enzimas hidrolíticas amilase, celulase e xilanase em 20 cepas de actinobactérias. Todas as cepas produziram atividade amilolítica, por sua vez 14 cepas apresentaram atividade celulolítica e 10 cepas apresentaram atividade xilanolítica. Foi verificado, através de análise estatística, diminuição da atividade enzimática da amilase no período após a queimada e aumento das atividades enzimáticas celulolítica e xilanolítica após a queimada. Agrupando os dados dos índices enzimáticos foi possível observar o potencial enzimático de cepas do período após a queimada.

**Palavras chave:** Microrganismos, Caatinga, temperaturas elevadas.

## ABSTRACT

The soil ensures the provision of several ecosystem services, having a rich biodiversity of microorganisms that interact in order to ensure its formation. Among these microorganisms, actinobacteria are known for their wide production of secondary metabolites with ecological and biotechnological potential. The emergence of forest fires or fires caused by anthropic activities can result in negative effects on the soil microbial community leading to its degradation. In order to train firefighters and evaluate the effects of forest fires on the Caatinga ecosystem the National Center for Prevention and Control of Forest Fires (Prevfogo) held together with the specialized brigade combat of forest fires (Brif / Caatinga) a fire simulation in the semi-arid region of the municipality of Quixeramobim (Ceará). Soil samples were collected in order to evaluate the effect of high temperature on the actinobacteria community before and after the burning. It was carried out the cultural characterization and hydrolytic enzymes activity essay using amylase, cellulase and xylanase on 20 strains of actinobacteria. All strains showed amylolytic activity, 14 strains showed cellulolytic activity and 10 strains showed xylanolytic activity. It can be inferred, by statistical analysis, the decrease of the amylolytic activity in the period after the burning and increase of the cellulolytic and xylanolytic activities after the burning. By grouping the data of the enzymatic indices it was possible to observe the enzymatic potential of the strains in the period after the burning.

Key words: Microorganisms, Caatinga, high temperature

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	8
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1	Solo como ecossistema.....	10
2.2	Semiárido do nordeste brasileiro.....	11
2.3	Incêndios florestais e queimadas.....	11
2.4	Actinobactérias.....	12
2.5	Atividade enzimática.....	13
3	OBJETIVOS.....	15
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	16
4.1	Coleta das amostras.....	16
4.2	Isolamento e quantificação da actinobactérias.....	16
4.3	Coloração de Gram.....	16
4.4	Caracterização cultural.....	17
4.5	Cultivo das cepas.....	17
4.6	Ensaio enzimático da amilase.....	17
4.7	Ensaio enzimático da celulase.....	17
4.8	Ensaio enzimático xilanase.....	18
4.9	Índice Enzimático.....	18
4.10	Análise de variáveis.....	19
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	19
5.1	Caracterização da área de coleta das amostras.....	19
5.2	Isolamento e quantificações das actinobactérias.....	20
5.3	Coloração de Gram.....	21
5.4	Caracterização cultural.....	21
5.5	Ensaio enzimático da amilase.....	23
5.6	Ensaio enzimático da celulase.....	26
5.7	Ensaio enzimático da xilanase.....	28
5.8	Análise entre as atividades enzimáticas.....	31
6	CONCLUSÃO.....	34
7	REFERÊNCIAS.....	35

## 1 INTRODUÇÃO

O solo garante a provisão de vários serviços ecossistêmicos, regulando processos naturais e fornecendo funções essenciais para o habitat microbiano (GREINER *et al.*, 2017; GREINER *et al.*, 2018). Os microrganismos participam da formação do solo transformando matéria orgânica em um processo que resulta na constituição de substâncias húmicas, promovendo a agregação de partículas e formando associados do solo (LEPSH, 2010). As comunidades microbianas presentes no ambiente afetam a qualidade do solo, proporcionando um ambiente estável (APARICIO, 2017; BUNEMANN *et al.*, 2018).

Dentre os microrganismos do solo, encontram-se as actinobactérias, bactérias aeróbias Gram-positivas, amplamente distribuídas no solo (USCÁTEGUI-NEGRÓNA, *et al.*, 2009), formando um filo cosmopolita que inclui bactérias em forma de bastonetes e filamentosas, que também desempenham papéis importantes como simbiontes e como patógenos em comunidades microbianas associadas a plantas (BARKA *et al.*, 2016).

Elas são quimioheterotróficas e podem utilizar polímeros complexos presentes no ambiente como fonte de energia (FRANCO, 2009) produzindo metabólitos secundários que atuam na reciclagem de biomassa, degradação de substâncias orgânicas, polissacarídeos, gorduras, proteínas e materiais resistentes na natureza (MEIJ *et al.*, 2017; BLAESING *et al.*, 2005; HOPWOOD, 1999; KOMATSUA *et al.*, 2010).

Actinobactérias estão presentes no solo da região semiárida do nordeste brasileiro (CAVALCANTE, 2017) adaptadas as condições de estresse biótico e abiótico características desse ambiente, como baixo índice pluviométrico, período de secas prolongados, temperaturas elevadas, alto índice de radiação solar e baixa disponibilidade de matéria orgânica (ARAÚJO, 2011; MUNOZ-ROJAS, 2016; SILVA, 2016).

As adaptações das actinobactérias ao longo do período evolutivo incluem a produção de enzimas extracelulares capazes de degradar carboidratos encontrados nos vegetais que são os principais componentes de matéria orgânica do solo (CHATER, 1997; FLARDH, 2009; SILVA, 2016).



A atividade enzimática de enzimas hidrolíticas como amilase, celulase e xilanase vem sendo observadas nas actinobactérias graças a sua importância ecológica na ciclagem de nutrientes, bem como no potencial biotecnológico para utilização industrial e remediação de solos degradados (APARICIO *et al.*, 2017; GOSAI, 2018). Cepas de actinobactérias do solo do semiárido nordestino brasileiro já foram relatadas como produtoras de amilase e celulase (SILVA *et al.*, 2015).

A diversidade microbiana e em particular a população de actinobactérias dispostas no ambiente terrestre, podem ser alteradas pelas atividades antropogênicas através do uso de compostos químicos e agentes físicos (RODRIGUES, 2007). O impacto de incêndios que resultam em uma exposição prolongada ao fogo, reflete diretamente no solo e na comunidade microbiana, resultando em um aumento significativo no pH, carbono orgânico total, nitrogênio total e matéria orgânica nos solos queimados (RODRÍGUEZ *et al.*, 2018; PRENDERGAST-MILLER *et al.*, 2017), levando ao aumento de matéria orgânica da comunidade microbiana do solo que responde com maior atividade e produção de biomassa (RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

Os incêndios causados por fatores ambientais ou antrópicos, podem modificar as características do solo de modo a afetar a comunidade de microrganismos presentes (SINGH *et al.*, 2017). O objetivo do trabalho foi mensurar a atividade enzimática amilolítica, celulolítica e xilanolítica das actinobactérias presente no solo antes da ação do fogo (pré-fogo) e após a ação do fogo no solo (pós-fogo), de modo a avaliar a influência das queimadas na atividade enzimática de cepas de actinobactérias.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Solo como ecossistema

O solo é constituído por fases sólidas, líquidas e gasosas, sendo formado através da transformação da rocha por processos físicos e químicos em materiais alterados em sua composição, os quais podem se movimentar mecanicamente ou por dissolução, formando diferentes horizontes (KIEHL, 1979). A qualidade do solo pode ser avaliada tanto para os agroecossistemas, cujo o principal serviço ecossistêmico é a produtividade, como para os ecossistemas naturais, onde os principais objetivos são a manutenção da qualidade ambiental e conservação da biodiversidade (BUNEMANN *et al.*, 2018).

A qualidade do solo, juntamente com a qualidade da água e do ar, são componentes da qualidade ambiental (ANDREWS *et al.*, 2002). A qualidade ambiental reflete a complexidade e especificidade da parte subterrânea de ecossistemas terrestres, além das ligações entre as funções do solo e os serviços ecossistêmicos baseados no solo (BUNEMANN *et al.*, 2018).

Os solos e suas funções são críticos para garantir a provisão de vários serviços ecossistêmicos (GREINER *et al.*, 2017), não sendo apenas um fator na produção agrícola, mas também regulando muitos processos naturais e fornecendo funções essenciais para o habitat (GREINER *et al.*, 2018). As funções do solo estão relacionadas a qualidade do solo sendo definidas como a produção de biomassa, proteção do ambiente, reservatório genético, base física das atividades humanas, fonte de matéria-prima, patrimônio geogênico e cultural (BLUM, 2005), além da capacidade para agir como um reservatório de carbono. A capacidade para entregar serviços econômicos é largamente determinada pelas funções do solo promovendo uma utilização do capital natural (GREINER *et al.*, 2017).

Fatores abióticos têm um efeito crítico nos solos e nas comunidades microbianas presentes (MUNOZ-ROJAS, 2016; PEREIRA *et al.*, 2018) influenciando na sua composição e diversidade, de modo que os microrganismos minimizam os efeitos que levam a degradação dos solos, podendo ser utilizados para viabilização e descontaminação dos solos (APARÍCIO, 2017).

## 2.2 Semiárido do nordeste brasileiro

O principal fator responsável pela variação fitogeográfica da região semiárida do Nordeste do Brasil é o clima, formação de relevo e a vegetação estão adaptados ao clima, apresentando períodos de secas prolongadas e um período chuvoso de 3 a 4 meses, além de precipitações entre 280 a 800 mm de médias anuais, com temperaturas mínimas acima de 15°C e as máximas de 40°C (ARAÚJO, 2011).

O domínio fitogeográfico da Caatinga é a maior ecorregião semiárida tropical da América do Sul, possuindo grande heterogeneidade com pelo menos dois núcleos florísticos, um sobre cristalino e outro sobre locais sedimentares, que apresentam estruturas distintas também em sua vegetação, com diferentes formas de vida (MORO *et al.*, 2016). A caatinga, uma vegetação arbórea de folhas decíduas, apresenta um espectro de formas de vida que abrangem terófitos, fanerófitos, camafíticos, hemicriptófitos e criptófitos (COSTA *et al.*, 2007).

Os distúrbios naturais, causam alterações significativas na estrutura e no funcionamento dos ecossistemas semiáridos (MUNOZ-ROJAS, 2016), condições impostas pelas variações pluviométricas baixas e temperaturas elevadas que afetam a abundância e diversidade microbiana do solo (ARAÚJO, 2011; CAVALCANTE, 2017).

## 2.3 Incêndios florestais e queimadas

As mudanças climáticas e outros fatores antropogênicos contribuíram para aumentar a frequência e o tamanho dos incêndios em florestas e regiões semiáridas (POON, 2018). Os incêndios são um distúrbio recorrente em florestas que apresentam alta carga de combustível, alta temperatura ambiente e baixa umidade (RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

O fogo pode ter grandes impactos no solo afetando sua capacidade de recuperação após a degradação dependendo da severidade e histórico do fogo, propriedades das cinzas, topografia, clima, pós-fogo, recuperação da vegetação e manejo pós-fogo, são fatores que podem agravar ou minimizar os efeitos do incêndio na degradação do solo (PEREIRA *et al.*, 2018).

O impacto do fogo depende do uso do solo antes do fogo, áreas de plantações mono específicas ou que não tiveram manejo têm um grau de impacto maior.

Severidades baixas do fogo podem ser benéficas para as propriedades do solo, enquanto a maior severidade do fogo pode produzir impactos negativos a longo prazo e induzir na degradação do solo (PEREIRA *et al.*, 2018).

O impacto de um incêndio florestal pode resultar em um aumento no pH, carbono orgânico total, nitrogênio total e matéria orgânica nos solos queimados (RODRÍGUEZ *et al.*, 2018; PRENDERGAST-MILLER *et al.*, 2017), levando ao aumento de matéria orgânica da comunidade microbiana do solo que responde com maior atividade e produção de biomassa (RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

O incêndio altera a abundância e diversidade da comunidade microbiana do solo (PRENDERGAST-MILLER *et al.*, 2017) que tem a capacidade de adaptar-se às mudanças ambientais do solo causadas pelo fogo através da modulação da sua composição e funções metabólicas (RODRÍGUEZ *et al.*, 2018).

## **2.4 Actinobactérias**

As actinobactérias são bactérias Gram-positivas com alto teor de guanina e citosina no DNA, possuem micélios e sofrem diferenciação morfológica complexa. O filo inclui patógenos, habitantes do solo, comensais de plantas e comensais gastrointestinais. Desempenham um papel importante como simbioses e como patógenos em comunidades microbianas associadas a plantas (BARKA *et al.*, 2016).

Esses microrganismos formam um filo cosmopolita que inclui bactérias em forma de bastonetes e filamentosas. Eles prosperam no solo, bem como nos ecossistemas marinhos e de água doce (BARKA *et al.*, 2016). Como produtoras de uma riqueza de metabólitos secundários, incluindo dois terços de todos os antibióticos conhecidos, bem como muitos anticancerígenos, antifúngicos e agentes imunossupressores, essas bactérias são de extrema importância para a saúde humana, agricultura e biotecnologia (MEIJ *et al.*, 2017).

Compõem um filo diversificado de bactérias filamentosas que produzem uma grande diversidade de pigmentos, muitas vezes possuindo micélio aéreo e reverso com diferente pigmentação. É concebível que grande parte da diversidade de metabólitos secundários produzidos por actinobactérias tenha evoluído como resultado de suas interações com outros microrganismos em ambientes diversificados (MEIJ *et al.*, 2017).

Actinobactérias são bem adaptadas à vida no solo ou em ambientes marinhos e evoluíram para viver em simbiose com plantas, fungos e animais (MEIJ *et al.*, 2017). Reproduzem-se por esporulação, quando as condições são favoráveis, um esporo germina formando um ou dois tubos germinativos que se desenvolvem ainda mais em hifas. Estes crescem pela extensão e ramificação da ponta da hifa, liberando exoenzimas para quebrar polímeros como quitina e celulose para fornecer nutrientes (CHATER, 1997; FLARDH, 2009).

Os metabolitos especializados são produzidos especificamente em resposta a demandas ecológicas, desempenhando um papel crucial na reciclagem de biomassa (MEIJ *et al.*, 2017; BARKA *et al.*, 2016), tendo muitas funções na natureza, como degradação de substâncias orgânicas, polissacarídeos, gorduras, proteínas e outros polímeros complexos (BLAESING *et al.*, 2005; HOPWOOD, 1999; KOMATSUA *et al.*, 2010).

Actinobactérias e rizóbios são bactérias naturalmente presentes no solo da região semiárida (CAVALCANTE, 2017), mostrando a ocorrência de um efeito antagonista exercido por esses microrganismos (LIMA, 2017). Cepas de actinobactérias naturais de ambiente semiárido indicaram elevado grau de diversidade cromogênica, bem como potencial para hidrólise de celulose e amido, elementos importantes para manutenção da diversidade da microbiota do solo (ALVES *et al.*, 2016; RAMOS *et al.*, 2015).

## **2.5 Atividade enzimática**

Exceto por um pequeno grupo de moléculas de RNA catalíticas, todas as enzimas são proteínas. A atividade catalítica torna as enzimas produtos biológicos de grande interesse comercial e ecológico, sendo capaz de degradar os mais diversos polímeros existentes, inclusive carboidratos em monossacarídeos. Na natureza a maioria dos carboidratos é encontrada na forma de polissacarídeos, polímeros de média a alta massa molecular (NELSON; COX, 2014; JØRGENSEN, 2009).

Microrganismos demonstraram uma gama diversificada de atividades enzimáticas (CASTRO *et al.*, 2014). Dentre as enzimas extracelulares mais comuns para a degradação de polissacarídeos as  $\alpha$ -e- $\beta$ -glicosidases se destacam sendo produzidas por muitos microrganismos e são usados para clivar ligações  $\alpha$ -1,4 entre

unidades de glicose em amido, amilases, e ligações  $\beta$ -1,4 em celulose, celulasas (JØRGENSEN, 2009).

A atividade enzimática pode ser afetada por fatores abióticos, em seus estudos Singh *et al*, (2017) avaliando as repostas microbianas a um incêndio na floresta tropical seca analisou a produção de desidrogenase,  $\beta$ -glucosidase, fosfatase ácida e alcalina encontrando produção significativa da fosfatase alcalina nos períodos que sucederam ao incêndio.

As enzimas produzidas por actinobactérias despertam interesse farmacológico e biotecnológico (HASSAN; SHAIK, 2017), dentre elas as enzimas hidrolíticas se destacam por sua importância ecológica na degradação de substratos no meio ambiente (HAMED I *et al*, 2018).

Estudos sobre a diversidade de actinobactéria da caverna de Hampoel avaliaram a atividade enzimática de amilase, protease, esterase, lipases e DNAses mostrando potencial significativo dessas enzimas (HAMED I *et al*, 2018). Na Caatinga, domínio do nordeste brasileiro actinobactérias apresentaram atividade enzimática da amilase e celulase (SILVA *et al*, 2015; OLIVEIRA *et al*, 2016).

### **3 OBJETIVOS**

#### **Objetivo geral**

- Avaliar o impacto da queimada na atividade de enzimas hidrolíticas de actinobactérias do semiárido.

#### **Objetivos específicos**

- Determinar a atividade enzimática para celulase, amilase e xilanase das cepas de actinobactérias.

## **4 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Coleta da amostra**

Foram utilizadas amostras de solo cedidas pelo Centro Nacional de Prevenção e Combate a Incêndios Florestais (Prevfogo) procedentes da área da 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.

### **4.2 Isolamento e quantificação da actinobactérias**

Na etapa de isolamento e quantificação, as amostras de solo foram homogeneizadas, pesadas (15 g) e transferidas para frascos contendo 135 mL de solução salina estéril a 0,85%. Esses frascos foram submetidos à agitação em mesa orbital a 145 g durante 30 minutos, resultando na diluição  $10^{-1}$ , utilizada para a obtenção das diluições de  $10^{-2}$  a  $10^{-4}$ . Depois da diluição seriada, alíquotas de 100µL de cada diluição, foram semeadas, através da técnica de espalhamento em superfície em placas com meio de cultura CDA (Caseinato-Dextrose-Ágar) (CLARK, 1965). Em seguida, as placas foram incubadas a 28° C em B.O.D., durante sete dias. Após esse período, as colônias foram quantificadas e o resultado expresso em Unidade formadora de colônias por grama (Log UFC.g<sup>-1</sup>). As colônias com características diferentes foram selecionadas e reisoladas no mesmo meio seletivo CDA para actinobactérias.

### **4.3 Coloração de Gram**

Para a coloração de Gram, utilizou-se uma lâmina, contendo uma gota de cada isolado de actinobactéria ressuspensa, 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 100x (LEVY, 2004).



#### **4.4 Caracterização cultural**

Cada cepa foi inoculada por estrias em placas de Petri, após purificação, contendo o meio seletivo CDA para actinobactérias. Em seguida as placas foram incubadas em estufa B.O.D a  $28 \pm 2$  °C por 7 dias. Na descrição das características culturais foram avaliadas as cores do micélio aéreo e reverso das colônias conforme descrito por Wink (2012), na carta de cores (RAL color charts). Baseado nas características culturais, 10 cepas foram selecionadas do solo antes do fogo (QB06, QB11, QB 24, QB 65, QB 68, QB83, QB114, QB142, QB190, QB191) e 10 do solo pós-fogo (QB32, QB45, QB55, QB 93, QB102, QB104, QB153, QB183, QB186, QB189).

#### **4.5 Cultivo das cepas**

As cepas de actinobactérias foram cultivadas em Caseína Dextrose Agar (CDA) (0,5 g de  $K_2HPO_4$ , 0,2 g de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0,01 g de  $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ , 2,0 g de dextrose, 0,2 g de caseína, 15 g de ágar, 1000 mL de água destilada e pH 6,5 a 6,6) (CLARK, 1965), durante sete a 14 dias a 28 °C em uma câmara de demanda de oxigênio bioquímico (BOD).

#### **4.6 Ensaio enzimático da amilase**

A determinação da atividade amilolítica seguiu a metodologia descrita por (ALARIYA *et al*, 2013) modificada conforme a seguir. As cepas de actinobactérias foram inoculadas, com o auxílio de uma alça de inoculação, na forma de spots e em quadruplicata no meio de cultura Ágar amido em placa de Petri. Posteriormente, as culturas foram incubadas a 28°C por 10 dias. Após o crescimento das colônias, foram adicionados 10 mL da solução de lugol (1% iodo em 2% iodeto de potássio) nas placas. A produção da enzima amilase foi detectada pela descoloração do meio, formando uma zona translúcida em torno da colônia. O halo foi resultante da hidrólise do amido. Os diâmetros das colônias e dos halos produzidos foram medidos com paquímetro digital (mm) colocado no reverso das placas de Petri. Foram feitos dois ensaios enzimáticos para amilase.

#### **4.7 Ensaio enzimático da celulase**

A atividade celulolítica das actinobactérias foi avaliada segundo Hankin (1976), utilizando meio de cultivo sólido suplementado com carboximetilcelulose (CMC) como

única fonte de carbono, com a seguinte composição em g L<sup>-1</sup> (NaNO<sub>3</sub>: 3,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1,0; MgSO<sub>4</sub>: 0,5; KCl: 0,5; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 10,0 mg L<sup>-1</sup>; CMC: 10,0; ágar: 20,0). As cepas de actinobactérias foram inoculadas nesse meio na forma de spots em quadruplicatas com o auxílio da alça de inoculação e incubadas a 28°C por 10 dias. Após a incubação, foram adicionados 10 mL de solução de vermelho congo a 0,5% em cada placa, deixando-se agir por 15 minutos sob temperatura ambiente. Posteriormente, o excesso da solução foi drenado e 10 mL de solução de NaCl (1 M) foram adicionados em cada placa, deixando-se agir por 30 minutos sob temperatura ambiente. Os diâmetros das colônias e dos halos produzidos foram medidos com paquímetro digital (mm) colocado no reverso das placas de Petri. Foram feitos dois ensaios enzimáticos para celulase.

#### **4.8 Ensaio enzimático xilanase**

A atividade xilanolítica seguiu a metodologia descrita por (BRECCIA, 1995) modificada conforme a seguir. Utilizando meio de cultivo sólido suplementado com xilana como única fonte de carbono, com a seguinte composição em g L<sup>-1</sup> (NaNO<sub>3</sub>: 3,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>: 1,0; MgSO<sub>4</sub>: 0,5; KCl: 0,5; FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 10,0 mg L<sup>-1</sup>; xilana: 10,0; ágar: 20,0). As cepas de actinobactérias foram inoculadas nesse meio na forma de spots em quadruplicatas com o auxílio da alça de inoculação e incubadas a 28°C por 10 dias. Após a incubação, foram adicionados 10 mL de solução de vermelho congo a 0,5% em cada placa, deixando-se agir por 15 minutos sob temperatura ambiente. Posteriormente, o excesso da solução foi drenado e 10 mL de solução de NaCl (1 M) foram adicionados em cada placa, deixando-se agir por 30 minutos sob temperatura ambiente. Os diâmetros das colônias e dos halos produzidos foram medidos com paquímetro digital (mm) colocado no reverso das placas de Petri. Foram feitos dois ensaios enzimáticos para xilanase.

#### **4.9 Índice Enzimático**

A atividade hidrolítica foi estimada semiquantitativamente usando-se um índice enzimático (IE) através da seguinte equação:  $IE = Dh/Dc$ . Sendo Dh o diâmetro em mm do halo de hidrólise e Dc o diâmetro em mm da colônia das actinobactérias (STAMFORD *et al.*, 1998).

#### 4.10 Análise das variáveis

Os índices enzimáticos das três atividades pré e pós-fogo foram analisados e comparados. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), para isso foi utilizado o software Past3.2 ao nível de 5 % de significância, seguido pelo teste de Tukey.

### 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 5.1 Caracterização da área de coleta da amostra

O Centro Nacional de Prevenção e Combate a Incêndios Florestais (Prevfogo) realizou junto a brigada especializada de combate a incêndios florestais (BRIF/Caatinga) atividades de capacitação de seus integrantes mediante a ação de incêndios florestais, simulando queimadas nas mediações da Fazenda Normal, localizada no município de Quixeramobim, Ceará ( $5^{\circ}07'12,1''$  S e  $39^{\circ}10'33,3''$  W) (Figura 1).

Com o intuito de avaliar os efeitos da queimada nos ecossistemas semiáridos foram coletadas amostras solo com área de amostragem 100 m x 100 m isolada por uma faixa de 3 metros sem vegetação em dois períodos, antes do fogo (pré-fogo) e depois do fogo (pós-fogo) (Figura 2), na profundidade de 0-20 cm do solo.

Figura 1. Ponto de coleta das amostras na Fazenda Normal, localizada no município de Quixeramobim.



Fonte: IPECE, 2009.

O solo da área é um Luvissole Crômico Pálico Típico, A moderado, com textura argilosa, fase pedregosa, rochosa, caatinga hiperxerófila, relevo plano a suave ondulado. Essas características são encontradas na maior parte dos solos do semiárido, proporcionando uma resistência a absorção de água pelo solo, mesmo com a ocorrência de chuvas concentradas (ARAÚJO, 2011).

O clima classificado como Tropical Quente Semiárido, apresenta pluviosidade média anual de 600 a 800 mm, concentrada nos meses de fevereiro a abril, temperatura média de 26 °C a 42 °C (IPECE, 2009). Características climáticas predominante no semiárido do nordeste brasileiro que influenciam as características fitogeográficas e o espectro de forma de vida da Caatinga (COSTA *et al.*, 2007; MORO *et al.*, 2016).

Figura 2. Queimada realizada pela BRIF/Caatinga ligada ao Núcleo Prevfogo/ Ditec/ Ibama/ CE.



Fonte: Prevfogo, 2009.

## 5.2 Isolamento e quantificação da actinobactérias

O isolamento e quantificação das cepas de actinobactérias ocorreu no Laboratório Microbiologia Ambiental (LAMAB) do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará pelos alunos do Programa de Pós Graduação em Ecologia e Recursos Naturais na disciplina de Ecologia microbiana.

A densidade das populações de actinobactérias foi maior nas amostras de solo coletadas antes do fogo. A amostra de solo 06 (pré-fogo) apresentou a maior densidade populacional de actinobactérias com  $1,46 \times 10^7$  log (UFC.g<sup>-1</sup>). No período após o fogo (pós-fogo) as cepas 08 e 09 não apresentarão crescimento, Rodriguez *et al.* (2017) afirmam que a mudança na abundância das comunidades microbianas após incêndios se deve a severidade e duração do fogo.

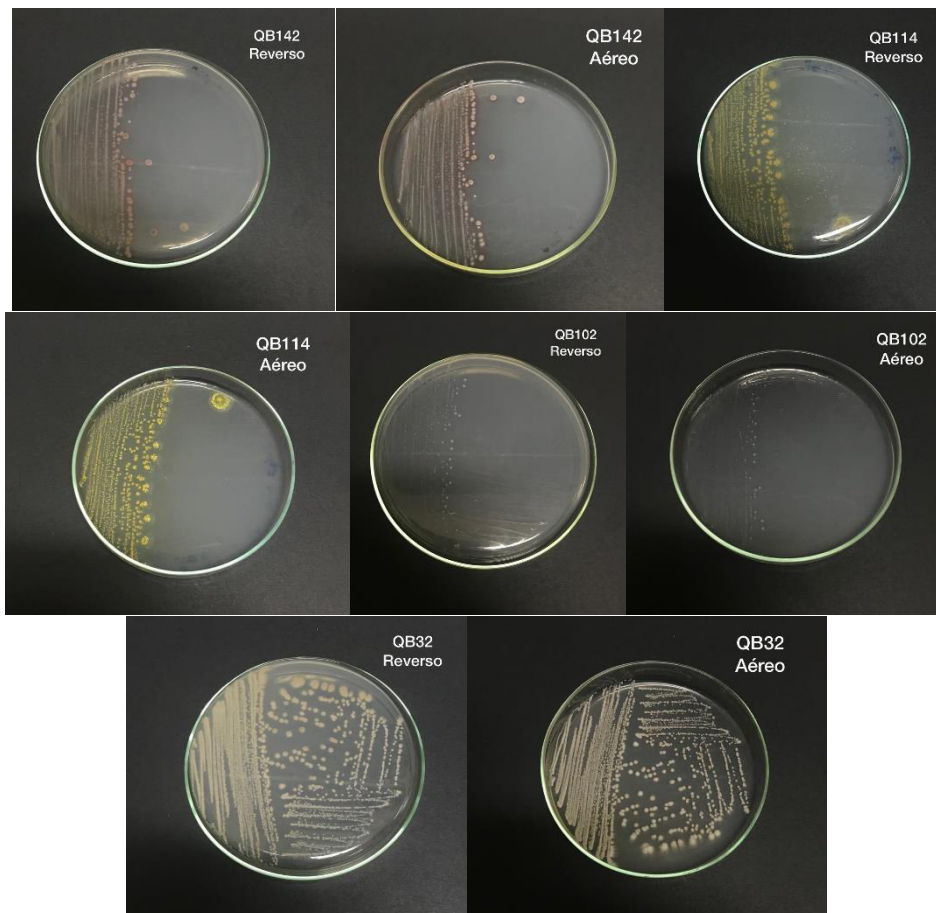
### 5.3 Coloração de Gram

A coloração de Gram confirmou o caráter Gram-positivo das actinobactérias que apresentam parede celular espessa rica em peptidoglicano (MADIGAN *et al.*, 2016).

### 5.4 Caracterização cultural

As características apresentadas em relação as cores do micélio aéreo e reverso das cepas de actinobactérias foram diversas, dessas foram selecionadas 20 cepas para a realização das atividades enzimáticas, 10 no período antes do fogo (pré-fogo) e 10 no período após o fogo (pós-fogo) baseados na caracterização cultural (Figura 3).

Figura 3. Cepas de actinobactérias de Quixeramobim nos períodos pré-fogo e pós-fogo.

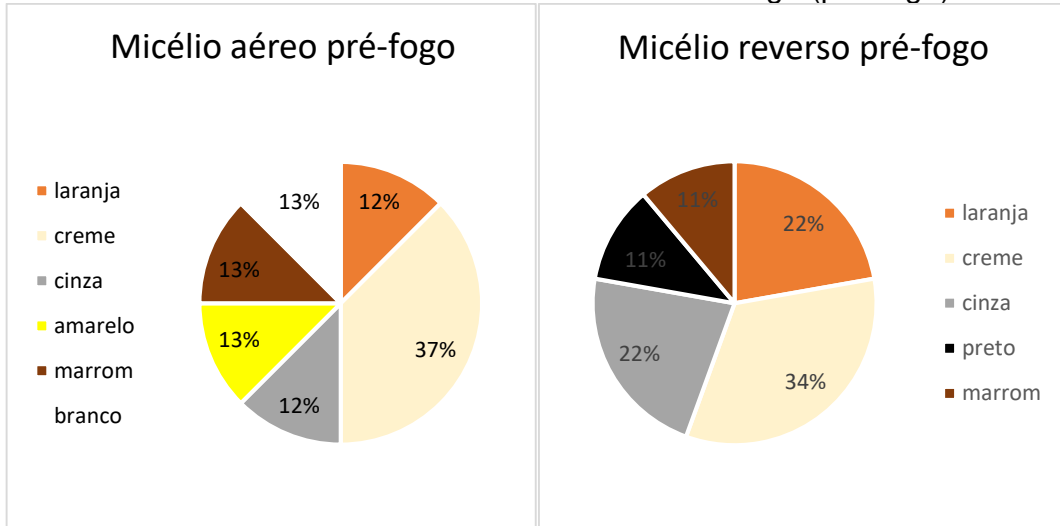


Fonte: Autor

Das 20 cepas a cor predominante no micélio aéreo antes do fogo foi creme (37%), com as demais cores tendo distribuição similar, 13% nas cepas com cores branco, marrom, amarelo e 12% nas cepas com cores cinza e laranja (Figura 4). Depois que o solo foi submetido a ação do fogo, as cores que prevaleceram foram

branco (30%) e marrom (20%), as cores amarelo, bege, cinza e creme tiveram distribuição similar de 10% cada (Figura 5).

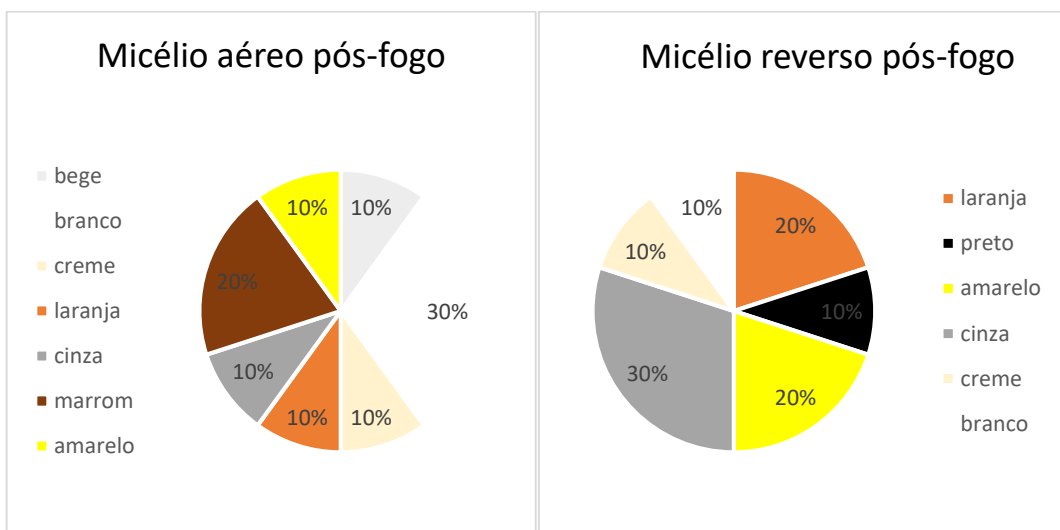
Figura 4-Distribuição de cores do micélio aéreo e reverso de actinobactérias do solo de Quixeramobim antes do fogo (pré-fogo).



Fonte: Autor.

O pigmento do micélio reverso antes do fogo teve destaque para coloração creme (34%), com as cores laranja e cinza (22%) e as cepas com cores marrom e preto (11%) (Figura 4). Após a ação do fogo as cores predominantes foram cinza (30%), amarelo e laranja (20%), com as cores preto, branco e creme (10%) (Figura 5).

Figura 5- Distribuição de cores do micélio aéreo e reverso de actinobactérias do solo de Quixeramobim depois do fogo (pós-fogo).



Fonte: Autor

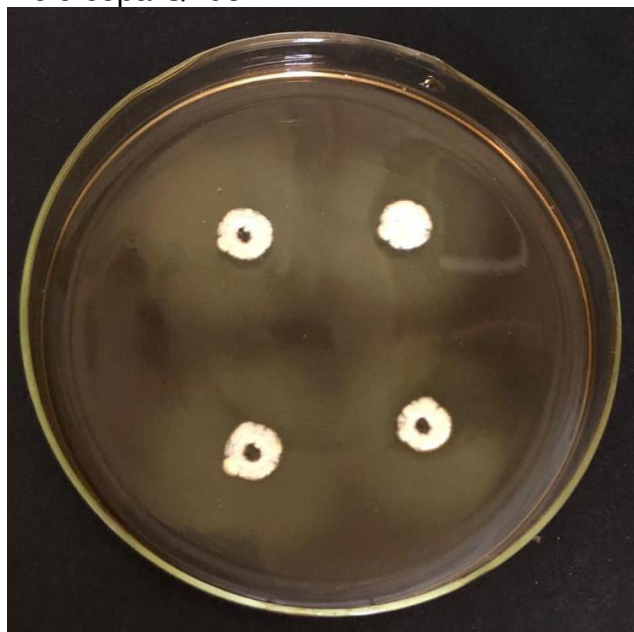
A distinção dos isolados através da observação de cores do micélio aéreo e reverso é um dos primeiros métodos usados para diferenciação das cepas. As cores creme, cinza e branco são predominantes nas actinobactérias do semiárido (RAMOS *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2015) condizem com as cores encontradas nas cepas de Quixeramobim.

### 5.5 Ensaio enzimático da amilase

A atividade amilolítica é indicada pela presença do halo de degradação translucido no meio ágar amido corado com lugol, que apresenta coloração roxa (Figura 6), e o índice enzimático é medido pelo diâmetro do halo e da colônia. A normalidade dos índices enzimáticos foi analisada pelo teste de Shapiro-WilkW apresentando p(normal) abaixo de 0,05, sendo os dados considerados normais pelo Teorema do Limite Central (HALL, 1984).

Todas as cepas apresentaram a produção de amilase e o teste de Tukey mostrou a disposição das médias com diferença significativa entre elas, indicando relevância quanto a atividade enzimática (Figura 7). A QB114 se destacou entre as cepas pré-fogo apresentando um índice enzimático abaixo do padrão demonstrado pelas cepas.

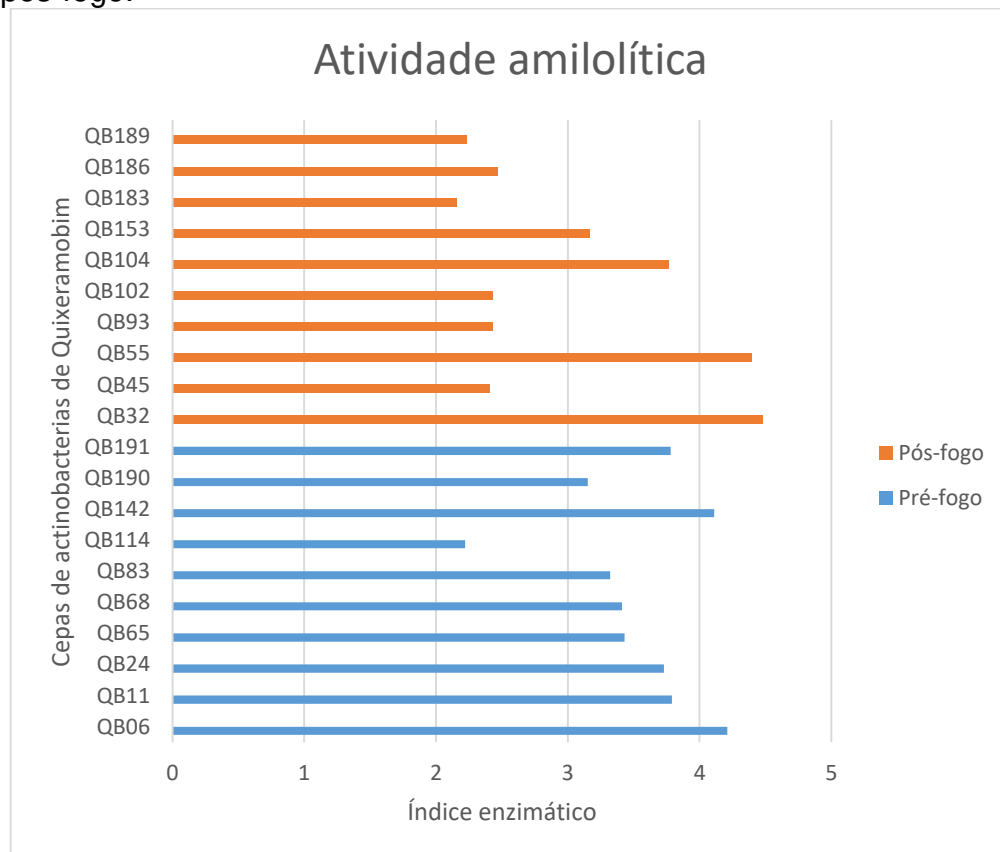
Figura 6. Halo de degradação amilolítica observado pela característica translúcida no meio cepa QB93.



Fonte: Autor

As cepas pós-fogo apresentaram diferença significativa entre elas, onde a QB45 apresentou os menores índices enzimáticos e a QB 32 apresentou os maiores índices enzimáticos (Figura 7).

Figuras 7. Atividade amilolítica das cepas de Quixeramobim pré-fogo e pós-fogo.



Fonte: Autor.

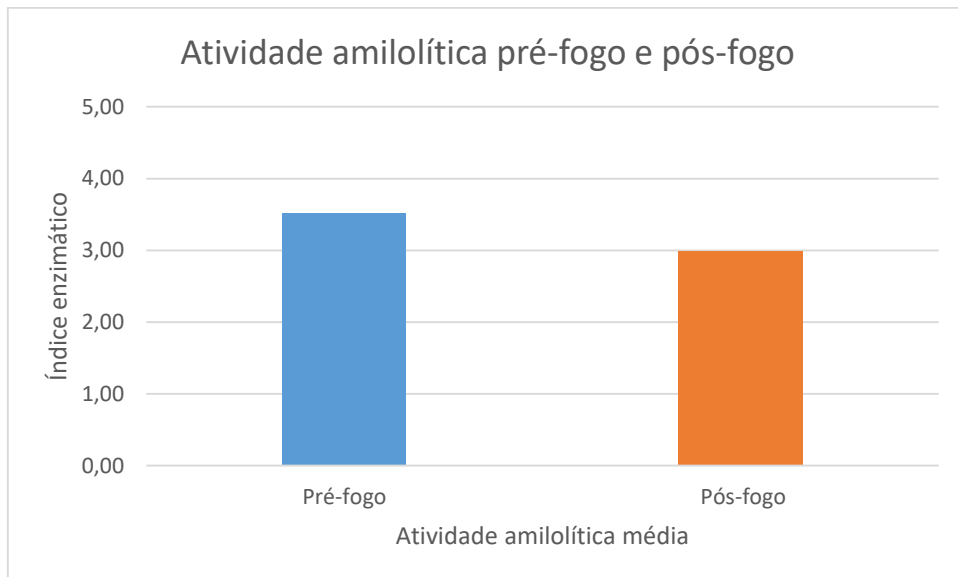
Actinobactérias na região semiárida do Ceará foram apontadas como produtoras de amilase em outros estudos (LOPES *et al.*, 2018; ALVES *et al.*, 2016). A atividade amilolítica leva a degradação de amido em amilose e amilopectina, o sítio ativo da enzima catalisa o substrato. O calor proveniente do fogo pode levar a enzima a sua desnaturação e a calcinização do substrato leva ao decaimento do amido no solo, ocasionando a diminuição da produção de amilase pelas actinobactérias (KHVEDELIDZE *et al.*, 2017; HAMEED *et al.*, 2017; VAIKUNDAMOORTHY *et al.*, 2018).

A atividade amilolítica apresentou diferença significativa pelo teste de Tukey entre o conjunto de cepas pré-fogo e pós-fogo, mostrando que a temperatura



ocasionada pela queimada influenciou negativamente a atividade enzimática da amilase extracelular das cepas (Figura 8).

Figura 8. Atividade amilolítica no período pré-fogo e pós-fogo das cepas de Quixeramobim.



Fonte: Autor.

A atividade amilolítica das cepas antes da queimada mostraram uma maior produção antes do período da queimada, provavelmente por existir uma maior quantidade de recursos de amido no ambiente, pois ele é o principal polissacarídeo de reserva energética nas plantas e constitui a matéria orgânica do solo (FIORETTO *et al.*, 2000; JØRGENSEN, 2009; NELSON; COX, 2014).

No trabalho de Bárcenas-Moreno *et al.* (2016) foram caracterizadas áreas não queimadas como tendo um maior teor de nutrientes e parâmetros microbianos quando comparadas a áreas queimadas, ressaltando que dependendo da comunidade vegetal na área queimada a comunidade microbiana do solo pode apresentar maiores parâmetros, respiração microbiana e produção de enzimas, após incêndio.

O aumento de matéria orgânica, como o amido, pode levar a uma maior atividade enzimática pela comunidade microbiana no solo, que se adaptam às mudanças ambientais causadas pelo fogo através da modulação de suas funções metabólicas (RODRÍGUEZ *et al.*, 2018). A atividade amilolítica menor no período pós-fogo das actinobactérias pode ter sido ocasionada pelas temperaturas provenientes

do incêndio, de modo que as cepas sofram mudanças na produção de amilase como mecanismo de adaptação a esse estresse.

### 5.6 Ensaio enzimático da celulase

A área clara ao redor das colônias corresponde ao halo indicador da degradação da carboximetilcelulose no meio corado com Vermelho Congo (Figura 9). Cepas que não apresentaram halo foram consideradas não produtoras de celulase. O resultado dos testes estatísticos apresentou normalidade dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk com  $p_{normal} < 0,05$ , sendo considerados normais pelo Teorema do limite Central (HALL, 1984) e após análise a ANOVA (análise de variância) o teste de Tukey's apresentou diferença significativa entre os índices enzimáticos.

Figura 9. Halo de degradação celulolítico observado no meio ágar carboximetilcelulose cepa QB93.



Fonte: Autor

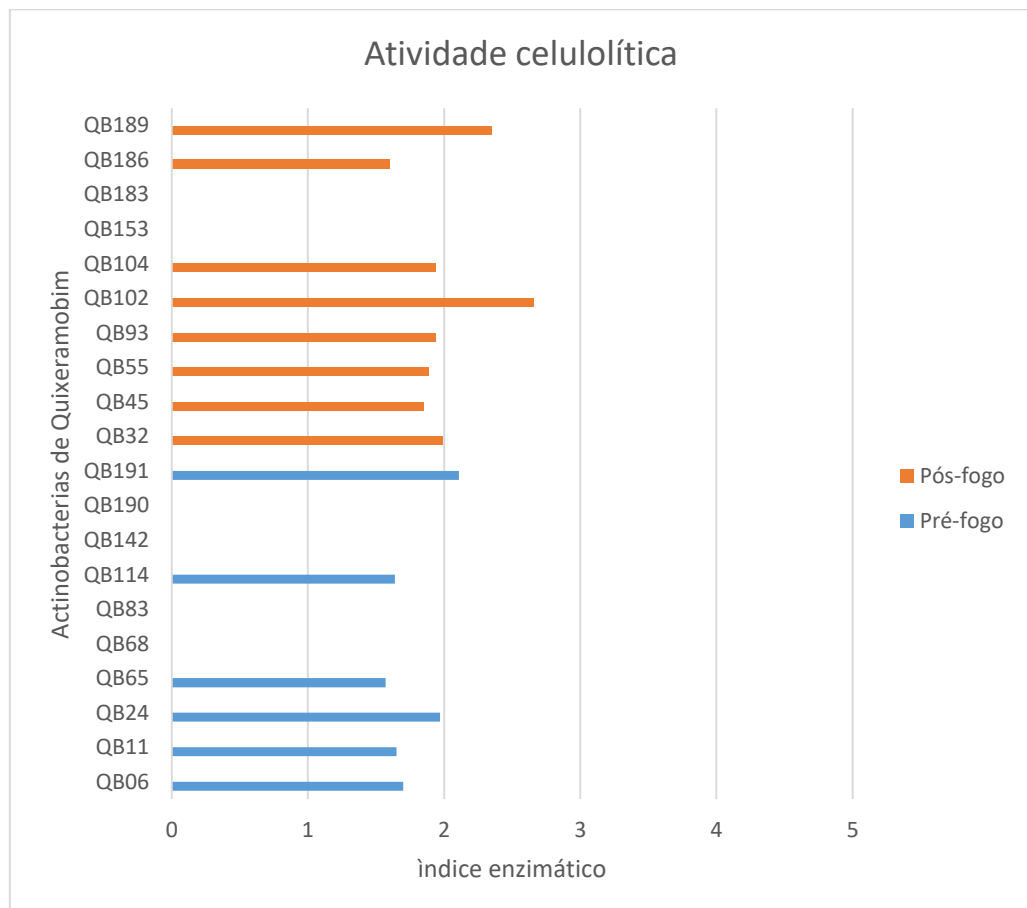
Das vinte cepas testadas quatorze cepas apresentaram atividade celulolítica, destacando as actinobactérias do período pós-fogo com oito cepas produzindo atividade celulolítica e tendo os maiores índices enzimáticos médios, nas quais as cepas QB102 e QB 189 apresentaram diferença significativa, em comparação com as cepas pré-fogo, em que apenas seis cepas apresentaram atividade celulolítica (Figura 10).

Bactérias e fungos são considerados principais produtores de celulases na natureza (GUPTA *et al.*, 2011) e na região semiárida do Ceará actinobactérias são apontadas como produtoras de enzimas celulolíticas (SILVA *et al.*, 2015; ALVES *et al.*, 2016; LOPES *et al.*, 2018).

O fato de poucas cepas apresentarem atividade enzimática significativa pode estar relacionado com as características da celulose e a forma como ela está disponível no ambiente, pois é constituinte da parede celular dos vegetais, sendo um polissacarídeo formado por resíduos de  $\beta$ -D-glicose unidos entre si por ligações  $\beta$ -1,4, e que mantém uma estrutura linear e plana (BAYER; LAMED, 1992).

No estudo da caracterização de celulases produzidas por *Bacillus* e *Geobacillus*, Rastogi *et al.* (2010) mostram que a celulase tem notável estabilidade térmica com faixa de temperatura ótima em torno de 70° C a 75°C, de modo que essa melhor atividade em temperaturas mais elevadas pode esclarecer a presença de índice enzimáticos maiores nas cepas pós-fogo.

Figura 10. Atividade celulolítica das cepas de Quixeramobim pré-fogo e pós-fogo.

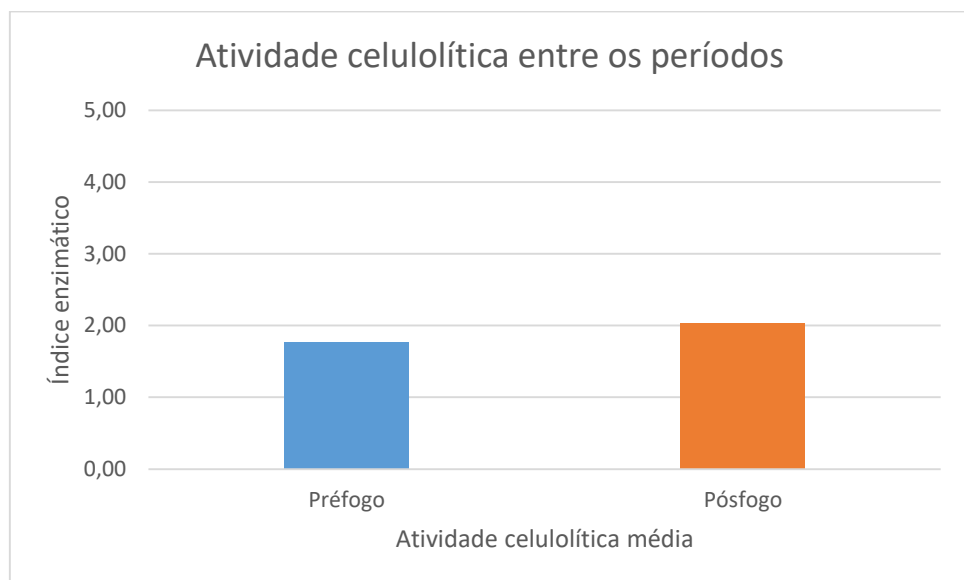


Fonte: Autor

A atividade celulolítica na comparação dos índices enzimáticos entre os períodos pré-fogo e pós-fogo apresentou diferença significativa, com maiores atividades enzimáticas no período pós-fogo, como visto no gráfico dos índices enzimáticos médios (Figura 11).

Actinobactérias produzem celulases com propriedades bioquímicas peculiares, com grande estabilidade e alta atividade em condições de pH e temperatura mais extremas (OLIVEIRA *et al.*, 2016). Neste aspecto o efeito da temperatura na atividade de CMCase (carboximetilcelulases) é bastante importante e as enzimas de actinobactérias apresentam, valores ótimos de atividade na faixa de 40 a 60°C (LIMA *et al.*, 2005; JANG; CHEN, 2003).

Figura 11. Atividade celulolítica no período pré-fogo e pós-fogo das cepas de Quixeramobim.



Fonte: Autor

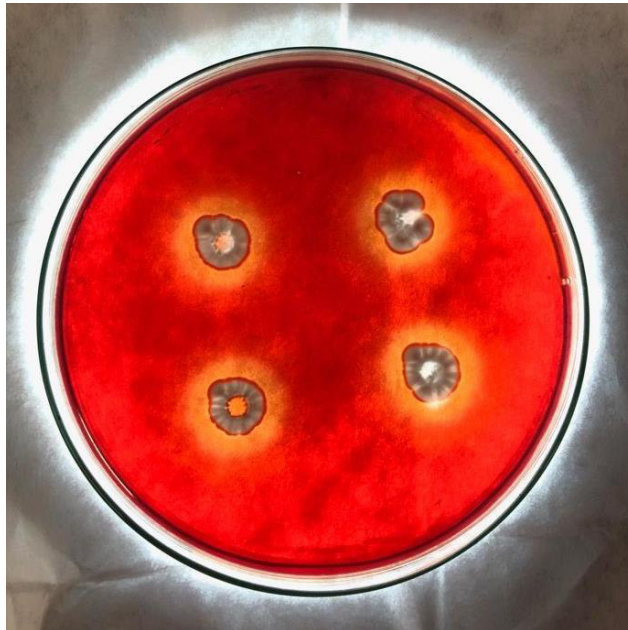
A característica das celulases produzidas por actinobactérias apresentarem alta atividade em temperaturas mais elevadas, esclarece o aumento da atividade celulolítica pós-fogo, explicando também a presença dos índices enzimáticos maiores nesse período serem atribuídos a influência da temperatura alta ocasionada pelo incêndio.

### 5.7 Ensaio enzimático xilanase

A área clara ao redor das colônias corresponde ao halo indicador da degradação da xilana no meio corado com Vermelho Congo (Figura 12). A

normalidade dos índices enzimáticos foi analisada pelo teste de Shapiro-Wilk apresentando  $p(\text{normal}) < 0,05$ , pelo fato dos dados ultrapassarem a quantidade de 50 índices enzimáticos eles foram considerados normais pelo Teorema do Limite Central (HALL, 1984) e submetidos a ANOVA (análise de variância).

Figura 12. Halo de degradação xilanolítico observado no meio ágar xilana cepa QB93.



Fonte: autor

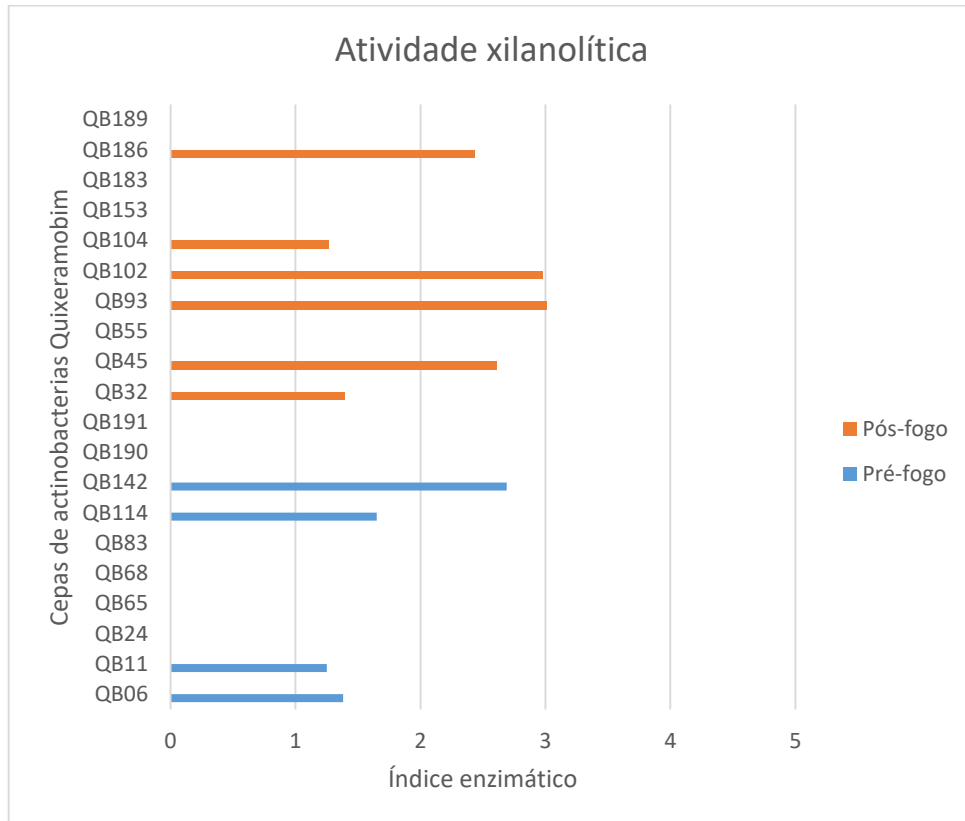
O teste de Tukey mostrou diferença estatística significativa entre os índices enzimáticos da atividade xilanolítica apresentada pelas dez cepas que produziram xilanase, sendo quatro cepas do período pré-fogo e seis cepas do período pós-fogo (Figura 13).

Nos estudos de Borjesson *et al.* (2018) a atividade da xilanase aumentou gradualmente a medida em que a temperatura aumenta até o valor de 60°C, tendo efetividade em degradar os polímeros de xilana que são construídos por uma cadeia linear de unidades de xilose unidos através de uma ligação  $\beta$ -1,4, os grupos laterais podem ser substituídos por ácidos urônicos, ferúlicos ou arabinofuranose, o que confere característica rígida a xilana. As características estruturais da xilana refletem a grande variedade de enzimas com atividade de xilanase (COLLINS; GERDAY; FELLER, 2005).

A efetividade da xilanase em amplitudes mais altas de temperatura podem explicar a presença de mais cepas produzindo atividade xilanolítica no período pós-

fogo e a diferença significativa entre as atividades xilanolíticas das cepas de actinobactérias pode estar relacionada com a grande variedade de enzimas com capacidade de degradar xilana.

Figura 13. Atividade xilanolítica das cepas de Quixeramobim pré-fogo e pós-fogo.



Fonte: Autor.

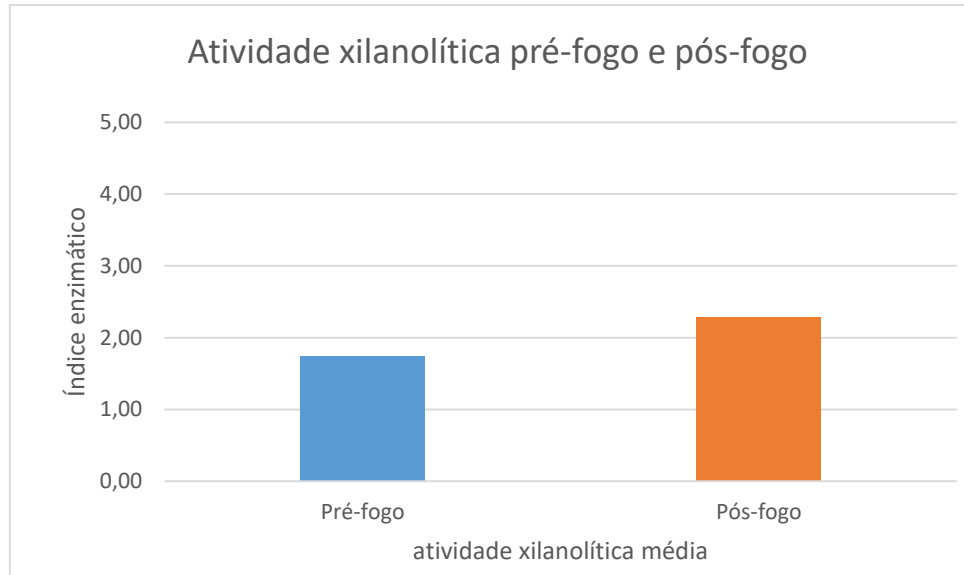
O conjunto de índices enzimáticos pré-fogo mostrou diferença estatística significativa quando comparadas com o conjunto de índice enzimáticos pós-fogo, indicando que a alta temperatura atribuída pela queimada afetou a atividade enzimática das cepas (Figura 14).

A atividade da xilanase de actinobactérias do gênero *Thermomonospora* sp. é maior na temperatura de 70°C, produzindo atividade até 80°C (GEORGE; AHMAD; RAO, 2001), por sua vez nos estudos de Meryandini *et al.* (2006) observaram que a atividade de xilanases extracelulares produzidas por actinobactérias do gênero *Streptomyces* sp. era maior na temperatura de 50°C com efetividade de 85% a 60°C.

A atividade de xilanase extracelular em fungos tem temperatura ótima de 50°C, variando até 80°C (KUMAR; SHUKLA, 2018; BEDADE *et al.*, 2017), o padrão de temperatura mais elevadas apresentado pelos microrganismos é demonstrado na

atividade xilanolítica das actinobactérias de Quixeramobim, que ao serem expostas ao calor da queimada apresentaram maior índice enzimático.

Figura14. Atividade xilanolítica no período pré-fogo e pós-fogo das cepas de Quixeramobim.



Fonte: Autor.

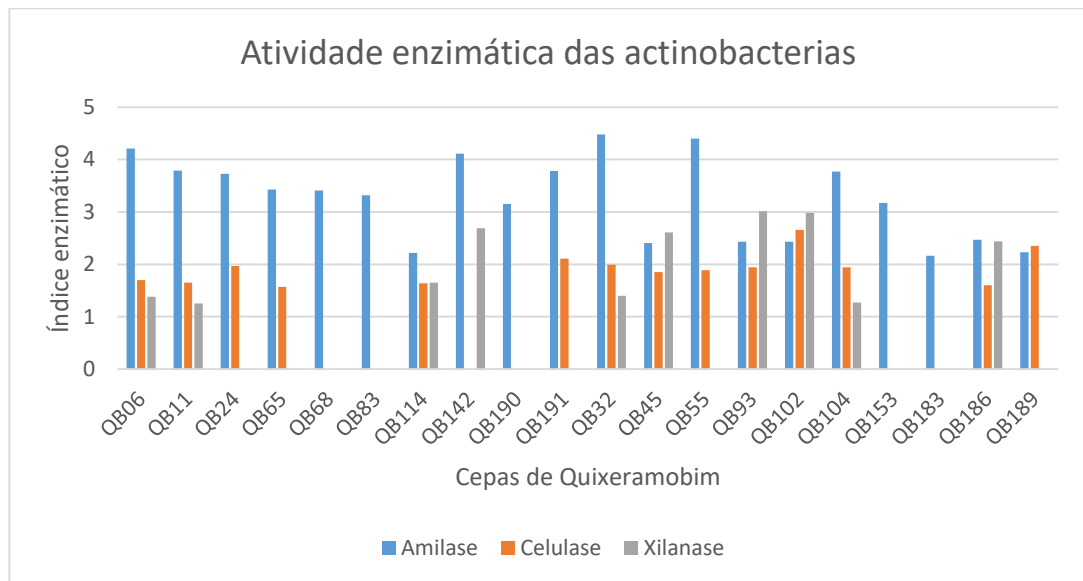
## 5.8 Análise entre as atividades enzimáticas

As atividades enzimáticas apresentadas pelas cepas foram analisadas entre si (Figura 15), mostrando que nove cepas foram produtoras das três enzimas e que cinco cepas apresentaram apenas a produção de amilase. A ANOVA (análise de variância) foi realizada entre os ensaios enzimáticos, e o teste de Tukey mostrou diferença estatística significativa da atividade amilolítica com as outras atividades, além de similaridade entre atividade celulolítica e a atividade xilanolítica.

Do período pré-fogo três cepas apresentaram todas as atividades enzimáticas, enquanto seis cepas apresentaram todas as atividades enzimáticas no período pós-fogo. Analisando a figura 15, observa-se que as cepas pré-fogo apresentam o padrão com o índice amilolítico sempre mais elevado, na figura 16 o dendrograma agrupa essa característica de amilase mais alta das cepas pré-fogo com a QB32 e a QB55, cepas do pós-fogo.

O dendrograma mostra uma similaridade maior entre os grupos com proximidade de suas atividades enzimáticas, podendo se observar a elevada influência que a atividade amilolítica teve no padrão apresentado pelas cepas, sendo ela na maioria das cepas o maior índice enzimático (Figura 16).

Figura 15. Atividades enzimáticas das cepas de Quixeramobim.



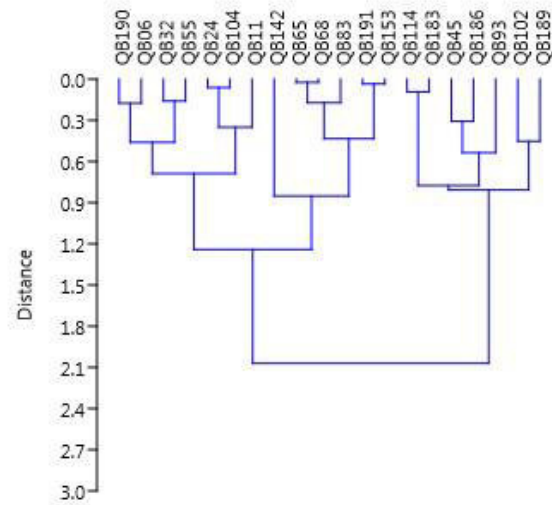
Fonte: Autor.

A temperatura é extremamente importante na regulação do crescimento e atividade fisiológica do microrganismo, bem como afeta a atividade da enzima produzida (KHVEDELIDZE *et al.*, 2017). A similaridade estatística entre as atividades da celulase e xilanase pode ser explicada pelo fato de existirem xilanases que são capazes de hidrolisar não apenas xilana, mas também de celulose (TSUJIBO *et al.*, 1992).

O dendrograma da figura 16 agrupou as cepas capazes de produzir todas as atividades hidrolíticas testadas em um grupo a parte formado na sua maioria por cepas pós-fogo e pela QB114. Cepas que apresentaram significância estatística como a QB102 e podem ter potencial biotecnológico.



Figura 16. Dendrograma dos índices enzimáticos.



Fonte: Autor

Segundo Prendergast-Miller *et al.* (2017), imediatamente o pós-fogo os efeitos na comunidade microbiana são negativos, mas os microrganismos possuem capacidade de adaptar-se às mudanças ambientais causadas pelo fogo através da modulação da sua composição e funções metabólicas (RODRÍGUEZ *et al.*, 2018). A atividade de enzimas hidrolíticas sofre modificação significativa após ação do fogo (SINGH *et al.*, 2017).

## **6 CONCLUSÃO**

A produção das enzimas hidrolíticas extracelulares das cepas de actinobactérias do solo foram afetadas de modo significativo pela queimada, apresentando diferenças entre as atividades enzimáticas testadas e com mais cepas produtoras das três enzimas no período pós-fogo.

## REFERÊNCIAS

- ALARIYA, S. S.; SETHI. S.; GUPTA S.; GUPTAB. L. Amylase activity of a starch degrading bacteria isolated from soil. **Scholars Research Library**. Archives of Applied Science Research, v. 5, n.1, p.15-24, 2013.
- ALVES D. A. S.; SILVA V. M. A.; GARCIA F. A. C; MARTINS S. C. S.; MARTINS C. M. Produção de celulase e amilase por actinobactérias do semiárido brasileiro. **Enciclopédia Biosfera**, v.13, n.24; p.1303-1315, 2016.
- ANAGNOSTAKIS, S. L. HANKIN, L. Use of selective media to detect enzyme production by microorganisms in food products. **Milk Food Technology**. International Association of Milk, Food, and Environmental Sanitarians. v. 38, n. 10, p. 570-572, 1975.
- ANDREWS, S.S., KARLEN, D.L., MITCHELL, J.P. A comparison of soil quality indexing methods for vegetable production systems in Northern California. **Agriculture, Ecosystems & Environment**, v. 90, p.25-45, 2002.
- APARICIO, J. D.; BENIMELI C. S.; ALMEIDA, C. A.; POLTI, M. A.; COLIN V. L. Integral use of sugarcane vinasse for biomass production of actinobacteria: Potential application in soil remediation. **Chemosphere**, v.181, p. 478-484, 2017.
- 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**, v. 5, p. 89-98, 2011.
- BÁRCENAS-MORENO, G.; GARCÍA-ORENES, F.; MATAIX-SOLERA, J.; MATAIX-BENEYTO, J. **Plant community influence on soil microbial response after a wildfire in Sierra Nevada National Park (Spain)**. Science of the Total Environment, 2016.
- BARKA, E. A; VATSA P., SANCHEZ L.; GAVEAU-VAILLANT, N.; JACQUARD, C.; KLENK, H. P.; CLÉMENT, C.; OUHDOUCH, Y.; VAN WEZEL, G. P. Taxonomy, physiology, and natural products of the Actinobacteria. **Microbiology and Molecular Biology**. R, v.80, p.1-43, 2016.
- BAYER, E. A.; LAMED, R. **The cellulose paradox: pollutant par excellence and/or a reclaimable natural resource?** Biodegradation, 3(2-3): p. 171-188, 1992.
- BEDADE, D.; BEREZINA, O.; SINGHAL, R.; DESKA, J.; SHAMEKH, S. **Extracellular xylanase production from a new xylanase producer *Tuber maculatum* mycelium under submerged fermentation and its characterization**. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2017.
- BEGON, M.; TOWNSEND C. R.; HARPER J. L. **Ecologia de Indivíduos a Ecossistemas**. 4ªed, Artmed, Porto Alegre. 2007.

BLAESING, F.; MUHLENWEG, A.; VIERTLING, S.; ZIEGELIN, G.; PELZER, S.; LANKA E. Introduction of DNA into actinomycetes by bacterial conjugation from *E. coli*—an evaluation of various transfer systems. **Journal of Biotechnology**, v.120, n.2, p. 146-161, 2005.

BLUM, W.E.H. Functions of soil for society and the environment. Reviews in **Environmental Science and Biotechnology**. v. 4, p. 75–79, 2005.

BÖRJESSON, M.; LARSSON, A.; WESTMAN, G.; STRÖM, A. Periodate oxidation of xylan-based hemicelluloses and its effect on their thermal properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 202, p. 280–287, 2018.

BUNEMANN, E. K.; BONGIORNOA, G.; BAIC, Z.; CREAMER, R. E.; DEYN, G.; GOEDE, R.; FLESKENS, L.; GEISSEND, V.; KUYPER, T. W.; PAUL MÄDER P.; PULLEMAN, M.; SUKKE, W.; VAN GROENIGEN, L. W.; BRUSSAARD, L. Soil quality – A critical review. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 120, p.105–125, 2018.

BRECCIA, J.D.; CASTRO, G.R.; BAIGORI, M.D.; SIIERIZ, F. Screening of xylanolytic bacteria using a colour plate method. **Journal of Applied Bacteriology**, v.78, p. 469-472, 1995.

CASTRO, R. A.; QUECINE, M. C; LACAVA, P. T.; BATISTA, B. D.; LUVIZOTTO, D.M; MARCON, J.; FERREIRA, A.; MELO I. S.; AZEVEDO, J. L. Isolation and enzyme bioprospection of endophytic bacteria associated with plants of Brazilian mangrove ecosystem. **SpringerPlus**, v.3, n.382, p.1-9 2014

CAVALCANTE, F. G.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Interações bióticas entre actinobactérias e rizóbios em solos da região semiárida brasileira. **Enciclopédia Biosfera**, v.14 n.26; p. 1009-1029, 2017.

CHATER, K.F.; LOSICK, R. **Mycelial life style of *Streptomyces coelicolor* A3(2) and its relatives**. In: Shapiro JA, Dworkin M (eds). **Bacteria as Multicellular Organisms**. New York: Oxford University Press, p.149-82, 1997.

CLARK, F. E. Actinomycetes. In: BLACK, C.A. (Ed) **Methods of soil analysis**. Madison. **American Society of Agronomy**. p. 1498-1501, 1965.

COLLINS, T.; GERDAY, C.; FELLER, G. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases. **FEMS Microbiology Reviews**. v. 29, p. 3-23, 2005.

COSTA, R. C.; ARAÚJO, F. S.; LIMA-VERDE, L. W. Flora and life-form spectrum in an area of deciduous thorn woodland (caatinga) in northeastern, Brazil. **Journal of Arid Environments**. v. 68, p. 237–247, 2007.

FIORETTO, A.; PAPA, S.; CURCIO, E.; SORRENTINO, G.; FUGGI, A. Enzyme dynamics on decomposing leaf litter of *Cistus incanus* and *Myrtus communis* in a Mediterranean ecosystem. **Soil Biology & Biochemistry**, v. 32, p.1847–1855, 2000.

FLARDH, K.; BUTTNER, M.J. *Streptomyces* morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. **Nature Reviews Microbiology**, v.7, p. 36-49, 2009.

FRANCO, M. N. **Produção de celulases por actinomicetos em resíduos agro-industriais, visando a obtenção de bioetanol**. 2009. f. 29. Dissertação (Mestrado)-Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

GEORGE S. P.; AHMAD, A.; RAO, M. B. A novel thermostable from *Thermomonospora* sp.: influence of additives on thermostability. **Bioresource Technology**, v. 78, p. 221-224, 2001.

GOSAI, H. B.; SACHANIYA, B. K.; PANSERIYA, H. Z.; DAVE B. P. Functional and phylogenetic diversity assessment of microbial communities at Gulf of Kachchh, India: An ecological footprint. **Ecological Indicators**, v.93, p. 65-75, 2018.

GREINER, L.; KELLER, A.; GRÊT-REGAMEY, A.; PAPRITZ, A. Soil function assessment: review of methods for quantifying the contributions of soils to ecosystem services. **Land Use Policy**, v. 69, p.224–237, 2017.

GREINER, L.; NUSSBAUM, M.; PAPRITZ, A.; FRAEFEL, M.; ZIMMERMANN, S.; SCHWAB, P.; GRÊT-REGAMEY, A.; KELLER, A. Assessment of soil multifunctionality to support the sustainable use of soil resources on the Swiss Plateau. **Geoderma Regional**, v.14, 2018.

GUPTA, P.; SAMANT, K.; SAHU, A. Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. **International Journal of Microbiology**, v.6, p.1-5, 2011.

HALL, P. Central Limit Theorem for Integrated Square Error of Multivariate Nonparametric Density Estimators. **Journal of Multivariate Analysis**, v. 14, p.1-16, 1984.

HAMED J.; KAFSHNOUCHI, M.; RANJBARAN, M. **A Study on actinobacterial diversity of Hampoeil cave and screening of their biological activities**. Saudi Journal of Biological Sciences. 2018.

HAMEED, U.; PRICE, I.; IKRAM-UL-HAQ; KE, A.; WILSON, D. B.; MIRZA, O. **Functional characterization and crystal structure of thermostable amylase from *Thermotoga petrophila*, reveals high thermostability and an unusual form of dimerization**. BBA - Proteins and Proteomics, 2017.

HANKIN, L.; ANAGNOSTAKIS, S. L. Solid media containing carboxymethylcellulose to detect C, cellulase activity of micro-organisms. **Great Britain**. Journal of General Microbiology, 98, p. 109-115. 1976.

HASSAN, S. S.; SHAIKH, A. L. Marine actinobacteria as a drug treasure house. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 87, p. 46–57, 2017.

HOPWOOD D. A. Forty years of genetics with *Streptomyces*: from in vivo through in vitro to in silico. **Microbiology**, v.145, p. 2183–2202, 1999.

IPECE – Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará. **Perfil básico Municipal (Quixeramobim)**. IPECE, 2009.

JANG, H. -D.; CHEN, K. S. Production and characterization of thermostable cellulases from *Streptomyces transformant T3-1*. **World Journal Microbiology and Biotechnology**, v.19, n.3, p.263-268, 2003.

JØRGENSEN, N.O.G. **Carbohydrates**. Encyclopedia of Inland Waters. p.727-742, 2009.

KHVEDELIDZE, R. M.; URUSHADZE, T. R.; KUTATELADZE, L.I.; TSIKLAURI, N. D, ZAKARIASHVILI, N. G.; ALEKSIDZE, T. I. Amilase-producing mikromycetes isolated from soils of South Caucasus. **Annals of Agrarian Science**, v. 15, p. 318-321, 2017.

KIEHL, E. J. **Manual de Edafologia: Relações solo-planta**. Editora Agronômica: Ceres, São Paulo, p. 15-42, 1979.

KOMATSUA, M.; UCHIYAMA, T.; OMURA, S.; CANE D. E.; IKEDA, H. Genome minimized *Streptomyces* host for the heterologous expression of secondary metabolism. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.107, n.6, p. 2646-2651, 2010.

KUMAR, V.; SHUKLA, P. **Extracellular xylanase production from *T. lanuginosus* VAPS24 at pilot scale and thermostability enhancement by immobilization**. Process Biochemistry, 2018.

LEPSH, I. F. **Formação e conservação dos solos**. São Paulo: Oficina de Textos, pp. 216, 2010.

LEVY, C. E. **Procedimentos laboratoriais: da requisição do exame à análise microbiológica**. In: Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde. Editora Agencia de Vigilância Sanitária (ANVISA), módulo 3, p. 45, 2004.

LIMA, A. L. G.; NASCIMENTO, R.P.; BOM, E. P. S.; COELHO, R. R. R. *Streptomyces drozdowiczii* cellulase production using agro-industrial by-products and its potential use in the detergente and textile industries. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 37, n.2, p. 272-277, 2005.

LIMA, J. V. L.; MARTINS, S. C. S.; SIQUEIRA, K. A. S.; SOARES, M. A.; MARTINS C. M. Characterization of actinobacteria from the semiarid region, and their antagonistic effect on strains of rhizobia. **African Journal of Biotechnology**, v.16, n. 11, p.499-507, 2017.

LOPES, J. B. A. C.; SILVA, V. M. A.; CAVALCANTE, F. G.; MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. Produção de enzimas hidrolíticas extracelulares por Actinobactérias oriundas do solo e serrapilheira de região Semiárida. **Enciclopédia Biosfera**, v.15 n.27; p.35 - 50, 2018.

MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; BENDER, K. S.; BUCKLEY, D.H.; STAHL, D. A. **Microbiologia de Brock**. -14. Ed. - Porto Alegre: Artmed, 2016.

MEIJ, A. V. D.; WORSLEY, S. F.; HUTCHINGS, M. I.; G. P. VAN WEZEL, G. P. Chemical ecology of antibiotic production by actinomycetes. **FEMS Microbiology Reviews**, fux005, 41, p. 392–416, 2017.

MERYANDINI, A.; HENDARWIN, T.; SAPRUDIN, D.; YULIN LESTARI, Y. Characterization of Xylanase *Streptomyces* spp. SKK1-8. **Hayati Journal of Biosciences**, v. 13, n. 4, p. 151-155, 2006.

MORO M. F.; LUGHADHA E. N.; ARAÚJO, F. S.; MARTIN, F. R. **A Phytogeographical Metaanalysis of the Semiarid Caatinga Domain in Brazil**. The New York Botanical Garden, 2016.

MUNOZ-ROJAS M.; ERICKSONA, T. E.; MARTINIA, D. DIXONA, K. W.; MERRITTA, D. J. Soil physicochemical and microbiological indicators of short, medium and long term post-fire recovery in semi-arid ecosystems. **Ecological Indicators**, v. 63, p. 14–22, 2016.

NELSON, D. L.; COX, M. M. - **Princípios de bioquímica de Lehninger**. - 6. ed.- Porto Alegre: Artmed, 2014.

OLIVEIRA, R. L.; BORBA, C. B. A.; JUNIOR, S. D.; ALBUQUERQUE, P. M.; LIMA G. M. S.; GUSMÃO, N. B.; ANDRADE, E. V.; SILVA, L. A. O. Production and characterization of endoglucanase secreted by *Streptomyces capoamus* isolated from Caatinga. **African Journal of Biotechnology**, v.15, p. 2394-2401, 2016.

PEREIRA, P.; FRANCOS, M.; BREVIK, E.C.; UBEDA, X.; BOGUNOVIC, I. **Post-fire soil management**. Current Opinion in Environmental Science & Health. 2018.

POON, P. K.; KINOSHITA, A. M. Spatial and temporal evapotranspiration trends after wildfire in semi-arid landscapes. **Journal of Hydrology**, v. 559, p. 71–83, 2018.

PRENDERGAST-MILLER, M. T.; MENEZES A. B.; MACDONALD, L. M.; TOSCAS, P.; BISSETT, A.; GEOFF BAKER, G.; FARRELL, M.; RICHARDSON, A. E.; WARK, T.; THRALL, P. H. Wildfire impact: Natural experiment reveals differential short-term changes in soil microbial communities. **Soil Biology & Biochemistry**. v. 109, p. 1-13, 2017.

RAMOS, K. A.; BRITO, F. A. E. B.; NUNES, K. J. F.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Caracterização e diversidade cromogênica de actinobactérias de um nicho microbiano preservado no bioma Caatinga. **Enciclopédia Biosfera**, v.11 n.21; p. 2115-2125, 2015.

RASTOGI, G.; BHALLA, A.; ADHIKARI A.; BISCHOFF, K. M.; HUGHES, S. R.; CHRISTOPHER, L. P.; SANI, R. K. Characterization of thermostable cellulases produced by *Bacillus* and *Geobacillus* strains. **Bioresource Technology**, v. 101, p.8798–8806, 2010.

RODRIGUES, K. **Identificação, produção de antimicrobianos e complexos enzimáticos de isolados de actinomicetos**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, p. 79-97, 2007.

RODRÍGUEZ, J.; GONZÁLEZ-PÉREZ, J. A.; TURMERO, A.; HERNÁNDEZ, M.; BALL, A. S.; GONZÁLEZ-VILA, F. J.; ARIAS, M. E. Wildfire effects on the microbial activity and diversity in a Mediterranean forest soil. **Catena**, v.158, p. 82–88, 2017.

RODRÍGUEZ, J.; GONZÁLEZ-PÉREZ, J. A.; TURMERO, A.; HERNÁNDEZ, M.; BALL, A. S.; GONZÁLEZ-VILA, F. J.; ARIAS, M. E. Physico-chemical and microbial perturbations of Andalusian pine forest soils following a wildfire. **Science of the Total Environment**, v. 634, p. 650–660, 2018.

SILVA, L. M. H. **Caracterização da matéria orgânica do solo de áreas com diferentes coberturas vegetais no semiárido de Pernambuco**. 2016. 87 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Produção Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Garanhuns, 2016.

SILVA, V. M.; BRITO, F. A. E.; RAMOS, K. A.; SILVA, R. M.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Atividade enzimática de actinobactérias do semiárido. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v.08, Número Especial IV SMUD, p.560-572, 2015.

SILVA, V. M. A.; LIMA, J. V. L.; GONDIM, P. M.; MARTINS, C. M.; MARTINS, S. C. S. Efeito da irrigação e do tipo de cultivo sobre a riqueza e diversidade cromogênica de actinobactérias do solo de uma região do semiárido do Ceará. **Enciclopédia Biosfera**, v.11 n.22; p. 2965-2979, 2015.

SINGH, A. K.; KUSHWAHA, M.; RAI, A.; SINGH, N. Changes in soil microbial response across year following a wildfire in tropical dry forest. **Forest Ecology and Management**, v.391, p. 458-468, 2017.

STAMFORD, T.L.M., STAMFORD, N.P., ARAUJO, J.M. Atividade enzimática de microrganismos isolados do jacatupé (*Pachyrhizus erosus* L. Urban). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, p. 382-385, 1998.

TSUJIBO, H.; MIYAMOTO, K.; KUDA, T.; MINAMI, K.; SAKAMOTO, T.; HASEGAWA, T.; INAMORI, Y. Purification, properties, and partial amino acid sequences of thermostable xylanases from *Streptomyces thermoviolaceus* OPC-520. **Applied Environmental Microbiology**, v.58, p. 371-375, 1992.

USCÁTEGUI-NEGRÓNA, M.; SERRANO, J. A.; BOIRON, P.; RODRIGUES-NAVAB, V. ; COUBLEB, A. ; MONIÉB, D. ; HERRERAC, K. S. ; SANDOVAL, H. ; REVIKINAD, V. ; PANIZOD, M. M. ; MENDOZAE, M. Clasificación e identificación de especies de actinomicetos: um estudo fenotípico comparativo. **Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología**, n. 29, p. 91-97, 2009.

VAIKUNDAMOORTHY, R.; RAJENDRAN, R.; SELVARAJU, A.; MOORTHY K.; PERUMAL S. Development of thermostable amylase enzyme from *Bacillus cereus* for potential antibiofilm activity. **Bioorganic Chemistry**, v. 77, p. 494–506, 2018.



WINK, J. M. **Compendium of actinobacteria**. University of Braunschweig, 2012.