

## **Quantificação de microrganismos amilolíticos a partir de solo com cobertura vegetal nativa e em solo cultivado com eucalipto<sup>1</sup>**

Anna Kamilla da Silveira Dias<sup>2</sup>; Maíra Paixão Resende<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Artigo apresentado à Faculdade de Engenharia Ambiental como parte dos requisitos para obtenção do título de Engenheiro Ambiental, Faculdade de Engenharia Ambiental, Universidade de Rio Verde, 2012.

<sup>2</sup> Aluna de Graduação, Faculdade de Engenharia Ambiental, Universidade de Rio Verde, 2012. E-mail: kamiladiasrv@hotmail.com.

<sup>3</sup> Orientadora, Professora da Faculdade de Engenharia Ambiental, Universidade de Rio Verde, 2012. E-mail: mairapaixao@hotmail.com.

**Resumo:** O solo é um ambiente complexo que reserva potencialmente uma grande diversidade e densidade microbiana. O estudo da microbiota do solo pode contribuir para a verificação quanto à sua fertilidade e desenvolvimento, além de indicar o impacto devido ao manejo inadequado do mesmo e as consequentes alterações em suas características físicas e químicas. Pela extensão da área cultivada com eucalipto no país existe um enorme interesse em avaliar seus efeitos em relação a atividade microbiana de solo nativo. Objetivou-se com esta pesquisa identificar e comparar a existência de microrganismos amilolíticos em solo com cobertura vegetal nativa e solo com cultivo de eucalipto. As amostras de solo foram coletadas em uma área de preservação permanente (nativo) e numa área de reflorestamento com a cultura do eucalipto situada no município de Acreúna – GO, removidas em uma profundidade entre 0 a 20 cm próximas às árvores com remoção da camada de serapilheira, totalizando 18 amostras de cada tipo de solo. Posteriormente, foram feitas diluições seriadas em solução salina a 0,9% e semeadas em meio ágar batata dextrose (BDA). Através da contagem de colônias desenvolvidas com potencial de quebra do amido em placa, pode ser comprovado através do teste ‘t’ de Student, que não houve diferença quanto ao número de microrganismos amilolíticos existentes em cada tipo de solo.

**Palavras-chave:** Amilase, Impacto ambiental, Indicador biológico.

**Abstract:** Soil is a complex environment that allows potentially substantial microbial diversity and density. The study of soil microbes can contribute to verification regarding their fertility and development, besides indicating the impact due to improper management of it and the resulting changes in their physical and chemical characteristics. By extension of the cultivated area in the country with eucalyptus there is huge interest in order to evaluate its effects in relation to native soil microbial activity. The objective of this research was to identify and compare the existence of amyolytic microorganisms in soil with native vegetation and soil cultivation with eucalyptus. Soil samples were collected in an area of permanent preservation (native) and an area of reforestation with eucalyptus culture in the municipality of Acreúna - Goiás, removed with depth from 0 to 20 cm near the trees with removal of layer litter, totaling 18 samples of each soil type, further diluted in 0.9% saline and plated on potato dextrose agar medium (BDA). By counting the colonies developed with potential for breaking down starch on the plate, can

be statistically confirmed by 't' test of Student, there was no difference in the number of microorganisms amylolytic in each soil type.

Keywords: Amylase, environmental impact, biological indicator.

## INTRODUÇÃO

Em nível genético, a população microbiana pode ser caracterizada como sendo altamente diversificada, transformando ambientes, restaurando ecossistemas, e propiciando a criação de novas biotecnologias. Conhecer essa diversidade vai além de enumerar indivíduos ou identificar espécies ou populações, pode incluir desde as etapas de acompanhamento, mensuração, caracterização de habitats, até eventualmente, a sua aplicação cotidiana atual (GIACHINI et al., 2010).

O Cerrado brasileiro, um bioma de grande extensão e importância, é uma reserva das mais variadas espécies de fauna, flora e microbiota edáfica, pela riqueza que mantém em seus solos nativos. Esse ecossistema sofre ao longo de vários anos com as altas taxas de desmatamento e manejo indiscriminado, afetando relativamente os teores de matéria orgânica do solo, fazendo com que ocorram alterações em suas propriedades físicas, químicas, e na atividade enzimática e no potencial uso do solo e principalmente na população microbiana local (KLINK, 2005).

As áreas de solo com vegetação natural estão sendo substituídas por diferentes sistemas de uso, como substituição por culturas agrícolas, pastagens e reflorestamentos resultando em um desequilíbrio no ecossistema, modificando, também, suas características (SANTOS, 2007).

Pela extensão da área cultivada com eucalipto no Brasil, existe também um alto interesse em avaliar seus diversos efeitos em relação aos atributos do solo, inclusive as atividades microbianas. Uma das estratégias utilizadas para avaliar as possíveis alterações do solo em decorrência do tipo de uso e das técnicas de manejo empregadas, é a comparação da atividade microbiana entre os solos com plantações de eucalipto e solos com cobertura de vegetação nativa (BARROS e COMERFORD, 2002).

O eucalipto é umas das espécies vegetais mais cultivadas em todo o mundo pela sua excelente adaptação a diversos tipos de climas, e pela mais ampla finalidade do uso de sua madeira; além da utilização na recuperação de áreas degradadas e como sequestro

de CO<sub>2</sub> na atmosfera. Mas, há quem diga que seu uso pode trazer efeitos contrários como esgotamento de água, empobrecimento do solo, e redução da diversidade microbiana (BERTOLA, 2000; PULROLNIK, 2009).

De acordo com o ecossistema e os limites de uso da terra, podemos conceituar a qualidade do solo como uma capacidade que esse recurso tem de exercer várias funções para poder sustentar a produtividade biológica, por manter e melhorar sua qualidade ambiental para a saúde humana, das plantas, e dos animais (ARAÚJO, GOEDERT e LACERDA, 2007).

Tendo em vista que o solo de modo geral, é considerado o ambiente de maior densidade e diversidade microbiana, dependendo do tipo de manejo, este pode ser uma excelente fonte de microrganismos funcionais, como aqueles que dependem da degradação do amido como fonte de nutrientes (RAMOS et al, 2012).

O conhecimento da diversidade de espécies microbianas amilolíticas propicia a utilização para fins industriais, uma vez que as enzimas amiláceas são bastante usadas na modificação de matérias-primas ou para obter produtos específicos, seu uso inclui as modificações de farinhas empregadas em panificação, na modificação enzimática de materiais amiláceos para a obtenção de açúcares, na fabricação de bebidas fermentadas entre outros (SPIER, 2004). Estas enzimas também se destacam pela sua contribuição para uma diminuição dos custos industriais, devido às vantagens que oferecem, como menor tempo de produção (OLIVEIRA et al., 2007).

A utilização dessas enzimas nas indústrias é indispensável, pois por meio dela pode-se também melhorar a qualidade de um produto, ou tornar mais fácil a obtenção do mesmo (BARATTO *et al.*, 2011). Além de poder acelerar os processos bioquímicos, sendo capazes de aumentar em até dez vezes algumas reações, sem requerer condições extremas de pH, pressão e temperatura (SOARES et al, 2010; OLIVEIRA e CHAGAS JÚNIOR, 2006).

Diante da perspectiva industrial para o uso de amilases, bem como pelo impacto ambiental causado em função do manejo do solo, objetivou-se com o presente trabalho analisar a densidade de microrganismos amilolíticos em solo com vegetação nativa do cerrado e em solo cultivado com eucalipto.

## MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram conduzidas de acordo com os procedimentos descritos por Borges *et al.* (2004) no laboratório de microbiologia da Universidade de Rio Verde - FESURV. Foram coletadas 18 amostras de cada tipo de solo, totalizando 36 amostras, coletadas em 30 pontos alternados em “zigue-zague” com profundidade de 0 a 20 cm, após a remoção da camada de serapilheira, com as covas localizadas próximas aos troncos das árvores.

Estas amostras foram retiradas de uma área de preservação permanente, nativa do cerrado e de uma área de reflorestamento com cultura de eucalipto, ambas localizadas no município de Acreúna – Goiás pelas coordenadas “17°24'29"S e 50°23'54"W” respectivamente.

Posteriormente foi realizada diluições seriadas utilizando solução salina a 0,9% para plaqueamento em meio Ágar Batata Dextrose (BDA) em placas de Petri.

Após cinco dias de incubação à temperatura ambiente, espécies amilolíticas foram evidenciadas pelo halo claro ao redor de cada colônia após a adição de uma solução de iodo, neste caso o Lugol. A afinidade do Lugol com o amido faz com que as partes onde existam o nutriente apresentem a cor escura e onde foram consumidos o amido se destaquem ao redor da colônia evidenciando a degradação pelo microrganismo.

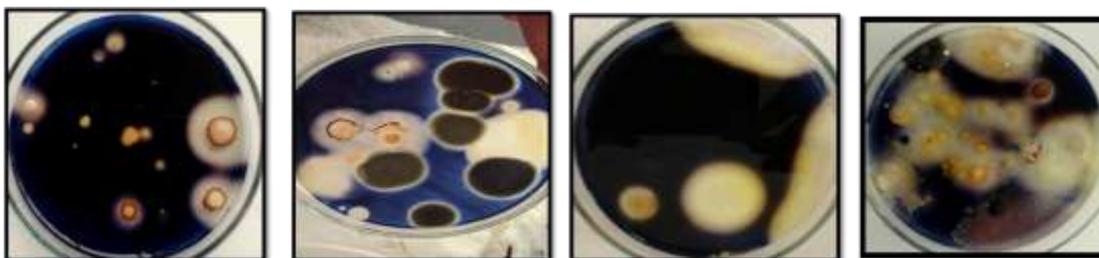


Figura 1. Atividades amilolíticas do solo nativo e solo cultivado com eucalipto, usando o meio BDA como fonte de carbono e tintura de iodo como substância reveladora.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram identificadas espécies amilolíticas em 12 amostras de solo com cobertura de vegetação nativa e em 10 com plantações de eucalipto, com as médias da unidade

formadora de colônia de 11,8 e 12,3 respectivamente, outras 14 amostras foram consideradas incontáveis pelo fato de existir um alto número de colônias desenvolvidas nas placas impossibilitando a identificação e contagem.

Não foi constatada diferença na quantidade de microrganismos com potencial para a quebra do amido entre os dois tipos de solo, para tanto foi realizado o teste de 't' de Student (tabela 1). Deve-se levar em consideração o número de "P", o qual indica a probabilidade de existir diferença entre as médias analisadas, quando o valor de P for menor ou maior a 0,05.

Tabela 1. Teste "t" realizado para comparação entre as médias analisadas.

Categoria	N	Média	Desvio padrão	Teste 't'	P
Nativo	18	11,833328	10,2110136	-0,139	0,890
Eucalipto	18	12,333322	11,3177410		

No entanto, pelas características culturais, foi possível verificar que a variedade microbiana é maior em solo com cobertura florestal nativa, fato que concorda com as observações de Silva et al (2010).

A comparação do índice de nutrientes entre os dois tipos de solos puderam ser obtidos por intermédio de uma análise química complementar (Tabela 2).

Tabela 2. Análise química dos solos

Amostra de solo	cmol.dm <sup>-3</sup>						mg.dm <sup>-3</sup>		g.kg <sup>-1</sup>	
	Ca+Mg	Ca	K	Mg	Al	H+Al	pH	K	P	M.O.
Nativo	8,26	6,49	0,38	1,78	0,01	5,5	5,73	147	3,88	9,8
Eucalipto	3,04	2,82	0,09	0,22	0,01	4,3	5,78	36	1,11	45,2

Os solos nativos apresentaram significativa disponibilidade de nutrientes, como o fósforo, o cálcio, o magnésio, o potássio, o que concorda com Neu (2005), que relata que a ciclagem de nutrientes é mais rápida em florestas nativas, provavelmente em função da

maior quantidade de matéria orgânica inserida e maior diversidade microbiana acarretando em uma degradação mais rápida da matéria orgânica.

A evidência do alto índice de matéria orgânica no solo com cultivo de eucalipto pode ser em virtude da baixa atividade microbiana neste ecossistema. Gama-Rodrigues et al (2008) relatam que a dissimilaridade entre as coberturas vegetais podem variar de acordo com a serapilheira e solo, e que a acumulação de serapilheira em florestas naturais geralmente é maior do que em áreas cultivadas com eucalipto,.

Estas diferenças podem também ser decorrente da baixa taxa de decomposição da matéria orgânica em florestas plantadas, devido à ação de um ou mais fatores, como baixa qualidade nutricional das folhas, baixa fertilidade do solo e menor diversidade de organismos decompositores (O'CONNELL & SANKARAN, 1997).

## CONCLUSÃO

Espécies microbianas amilolíticas podem ser isoladas a partir de solo tanto com cobertura vegetal nativa como com plantações de eucalipto em ambiente de cerrado. No entanto não houve diferença na quantidade de tais espécies nos dois tipos de solo.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, R.; GOEDERT, W. J.; LACERDA, P. C. Qualidade de um solo sob diferentes usos e sob cerrado nativo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.31, p.1099-1108, 2007.

BARATTO, C. M.; SALAMONI, S. P.; COSTA, R.; OLIVEIRA, C. B.; LOCATELLI, G. O. Seleção de microrganismos produtores de enzimas hidrolíticas isolados da região do meio oeste de Santa Catarina, Brasil. **Evidência**, v.11, n.2, p.15-18, 2011.

BARROS, N.F.; COMERFORD, N.B. Sustentabilidade da produção de florestas plantadas na região tropical. In: ALVAREZ V., V.H.; SCHAEFER, C.E.G.R.; BARROS, N.F.; MELLO, J.W.V.; COSTA, L.M. (Eds.). **Tópicos em ciência do solo**. Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2002. p.487-592.

BERTOLA, A. **Eucalipto: 100 anos de Brasil**. Disponível em: <<http://pt.scribd.com/doc/44587685/Eucalipto-100-Anos-deBrasi>>.

Acesso em: 15 de novembro, 2012.

BORGES, A. C.; KASUYA, M. C. M.; COSTA, M. D.; CASSINI, S. T. A.  
**Microbiologia do solo – práticas de laboratório.** Viçosa: UFV, 2004.

GAMA-RODRIGUES, E.F.; BARROS, N.F da.; VIANA, A. P.; SANTOS, G.A.;  
Alterações na biomassa e na atividade microbiana da serapilheira e do solo, em  
decorrência da substituição de cobertura florestal nativa por plantações de eucalipto, em  
diferentes sítios da região sudoeste do Brasil. **Revista Brasileira de Ciência do solo.**  
32:1489-1499, 2008

GIACHINI, A.J et al. **Microrganismos e processos biotecnológicos.** Santa Catarina:  
FAPESC/FUNPESQUISA, 2010.

KLINK, C. A.; MACHADO, R.B. A conservação do cerrado brasileiro. Instituto de  
Biologia. UNB. **Revista Mega Diversidade**, v.1, n.1, jul. 2005.

NEU, VANIA.; Influência da cobertura vegetal na ciclagem de nutrientes via solução do  
solo na região de Manaus-AM. Piracicaba. Escola superior de agricultura. Universidade  
de São Paulo. 2005.

OLIVEIRA, J.S.; CHAGAS JÚNIOR, A. F. Atividade enzimática de isolados de rizóbia  
nativos da Amazônia Central crescendo em diferentes níveis de acidez. **Ciências e  
Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.1, p.204-210, 2006.

OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, L. A.; ANDRADE, J. S.; CHAGAS JÚNIOR, A. F.  
Produção de amilase por rizóbios, usando farinha de pupunha como substrato. **Ciências e  
Tecnologia de Alimentos**, v.27, n.1, p.61-66, 2007.

O'CONNELL, A.M. & SANKARAN, K.V. Organic matter accretion, decomposition  
and mineralization. In: NAMBIAR, E.K.S. & BROWN, A.G., eds. Management of soil,  
nutrients and water in tropical plantation forest. Melbourne, ACIAR, 1997. p.443-480.

PULROLNIK, K.; Transformações do carbono no solo. **Embrapa Cerrado.** Documento  
264. Planaltina. DF. Julho. 2009.

RAMOS, M. L. G.; MENEGHIN, M. F. S.; PEDROSO, C.; GUIMARÃES, C. M.;  
KONRAD, M. L. F. Efeito dos sistemas de manejo e plantio sobre a densidade de grupos  
funcionais de microrganismos, em solo de cerrado. **Biosci. J.**, v.28, n.1, p.58-68, 2012.

SANTOS, J. D. **A influência de diferentes sistemas agrícolas nas propriedades físicas  
e químicas das camadas superficiais do solo.** Belo Horizonte: Departamento de  
Geografia da UFMG, 2007.

SILVA, R. R.; SILVA, M. L.; CARDOSO, E. L.; MOREIRA, F. M. S.; CURI, N.; ALOVISI, A. M. T. Biomassa e atividade microbiana em solo sob diferentes sistemas de manejo na região fisiográfica Campos das Vertentes – MG. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.34, p.1585-1592, 2010.

SOARES, I. A.; FLORES, A. C.; ZANETTIN, L.; PIN, H. K.; MENDONÇA, M. M.; BARCELOS, R. P.; TREVISOL, L. G.; CARVALHO, R. D.; SCHAUREN, D.; ROCHA, C. L. M. S. C.; BARONI, S. Identificação do potencial amilolítico de linhagens mutantes do fungo filamentoso *Aspergillus nidulans*. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.3, p.700-705, 2010.

SPIER, M.R. ; WOICIECHOWSKI, A. L. ; SOCCOL, C. R. **Produção de  $\alpha$ -Amilase por *Aspergillus* em Fermentação no Estado Sólido de Amido de Mandioca e Bagaço de Cana-de-Açúcar**. VI SEMINÁRIO BRASILEIRO DE TECNOLOGIA ENZIMÁTICA. Anais Enzitec 2004. Rio de Janeiro: Enzitec, 2004. v. 1. p. 116-116.