

II Encontro anual de
INICIAÇÃO 
CIENTÍFICA DA UNESPAR

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE ACTINOMICETOS ISOLADOS DE MANGUEZAL NA BAÍA DE PARANAGUÁ, PARANÁ

Jean Carlos Ramos de Almeida (PIC, Fundação Araucária)
Unespar/Paranaguá, jealmeida1994@gmail.com
Danyelle Stringari (Orientadora)
Unespar/Paranaguá, danyelle.stringari@unespar.edu.br
Renata Rodrigues Gomes (Co-orientadora)
Unespar/Paranaguá, rrgrenata@gmail.com

Palavras-chave: Actinomicetos. Biotecnologia. Manguezal.

INTRODUÇÃO

Manguezais são ecossistemas que estão situados no limite entre a terra e o mar, em latitudes tropicais e subtropicais, que toleram condições de alta salinidade, solo anaeróbico e altas temperaturas. Esse ambiente origina habitats únicos com uma grande riqueza de espécies que habitam o local, com seus sedimentos servindo de abrigo para vários organismos. Por estarem cercados de sedimentos, são considerados locais que atraem comunidades ricas, como as bactérias, fungos, invertebrados e macroalgas (KATHIRESAN, 2001). No Brasil, a extensão do litoral que ocupa é de 6.786 km, que cobrem um estimado de 25.000 km² (SCHAEFFER-NOVELLI, 2000).

Por estarem em contato direto com fatores extremos, os manguezais são bem adaptados para lidar com condições estressantes, embora possam ser sensíveis a perturbações, como aquela realizada por atividades humanas. Também são encarregados de proteger e estabelecer as linhas costeiras, enriquecer as águas do local, suportar a pesca, sendo um dos ecossistemas mais produtivos do mundo (KATHIRESAN, 2001). Esse local serve de ambiente único para várias comunidades bacterianas, sendo fundamentais para o seu funcionamento, como no controle de químicos presentes no solo. Bactérias redutoras de sulfato são os principais decompositores de sedimentos anaeróbicos de manguezal, contribuindo para os padrões de vegetação e solo, bem como controlando outros elementos (KATHIRESAN, 2001). Bactérias presentes também podem auxiliar no processamento de esgotos industriais. Grande parte habita na superfície do manguezal, de maneira epífitica, embora algumas espécies prefiram as árvores (KATHIRESAN, 2001).

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

As actinobactérias, bactérias Gram-positivas com alta concentração de guanina e citosina no DNA (SILVA, 2015), são encontradas em vários ambientes, sendo importantes para a população microbiana do solo. Esse grupo de bactérias é conhecido por ser capaz de produzir uma grande gama de metabólitos secundários, assim como enzimas capazes de degradar substâncias de interesse industrial. Enzimas produzidas a partir de microrganismos possuem grande diversidade e a possibilidade de se realizar manipulação genética (SILVA, 2015).

Enzimas são proteínas catalisadoras de reações químicas, que possuem estrutura molecular complexa, com uma parte proteica integrada a outras moléculas (ORLANDELLI, 2012). Podem ser utilizadas no tratamento de resíduos e fabricação de produtos tecnológicos. Por não necessitarem de altas temperaturas, suportarem valores considerados altos de pH, serem fáceis de controlar e de baixo custo, são amplamente utilizadas como catalisadores na indústria (ORLANDELLI, 2012).

A aplicação no mercado industrial está ligada à Biotecnologia e para que as enzimas possam ser comercialmente utilizadas, ela deverá resultar na produção de um produto de melhor qualidade que o tradicional (ORLANDELLI, 2012), e sua utilização resulta no desenvolvimento de processos tecnológicos com eficiência maior que os naturais, diminuindo impactos ambientais (MESSIAS, 2011).

Os actinomicetos tem sido uma fonte de inúmeros produtos, sendo inclusos os agroquímicos, fármacos e enzimas de utilização na indústria alimentícia a confecção do papel (GULVE, 2011). Essas bactérias são importantes para degradar a matéria orgânica, devido a suas enzimas, e usam diversas fontes de carbono e energia. Bactérias do gênero *Streptomyces* se destacam devido a sua capacidade de produzir inúmeras enzimas com aplicação na indústria (DUARTE, 2009) e inúmeras pesquisas estão sendo realizadas, cujo o objetivo é o de identificar outras espécies capazes de produzir metabólitos com utilidade para a indústria, como as enzimas (SILVA, 2015).

O polissacarídeo amido, por constituir grande parte dos vegetais, é o componente mais importante da reserva de energia do reino vegetal (SILVA, 2015). As amilases, uma das enzimas mais importantes para a indústria (CUZZI, 2011), possuem a capacidade de degradar este carboidrato, contribuindo para a disponibilidade de nutrientes na natureza (SOARES, 2010; SILVA, 2015).

A produção de enzimas capazes de converter lignocelulose em glicose, as celulases, são realizadas majoritariamente por microrganismos, graças a sua diversidade e o maior rendimento em relação aos outros processos (SOUZA, 2012). A celulose é o constituinte

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

natural mais abundante de compostos orgânicos, sendo utilizado na agricultura e na indústria (JEFFREY, 2007). Microrganismos que produzem essa enzima possuem um papel importante no ciclo de carbono, pois são capazes de degradar a fração insolúvel da celulose, com grande aplicação na indústria de papel (ORLANDELLI, 2012; SILVA, 2015).

A fosfolipase está associada à patogenicidade dos microrganismos, causando o rompimento das membranas celulares, permitindo a penetração na mucosa epitelial do organismo, sendo que um dos maiores produtores dessa enzima é a *Candida albicans*, responsável pela candidíase (MENEZES, 2005; CAMPOS, 2010). Essas enzimas hidrolizam a ligação ester nos fosfolipídeos, sendo estes um dos principais componentes da membrana celular. A produção dessa enzima está ligada às atividades tóxicas de patógenos de plantas e animais. A presença de enzimas pode ajudar a prevenir a esterificação do colesterol no soro humano, assim como reduzir a infecciosidade do vírus da influenza (KO, 1970). Actinomicetos do gênero *Streptomyces* produzem grandes quantidades de fosfolipase D (KATO, 1984). Lecitinas, uma mistura de fosfolipídeos, são produtos abundantes dos processos de produção de óleo industrial, utilizando óleo vegetal e gordura animal. Essa substância é utilizada na indústria alimentícia como emulsificante, estabilizador e antioxidante (NAKAZAWA, 2006).

A enzima lipase é o terceiro maior grupo em vendas no mundo (MESSIAS, 2011). São definidas como proteínas que hidrolisam acilgliceróis de cadeia longa, com mais de 10 átomos de carbono. Óleos e gordura que contém triacilgliceróis são os substratos naturais. Tais enzimas toleram grandes variações de pH, são estáveis às altas temperaturas e altamente específicas. Para a indústria, a maior fonte de enzimas tem sido a partir de microrganismos, tanto como fungos e bactérias, dentre eles, os actinomicetos. Sua aplicação se dá na indústria alimentícia, têxtil, farmacêutica, produção de biodiesel, tratamento de efluentes, e ainda, na aplicação de detergentes, que auxíla na hidrólise de lipídeos (MESSIAS, 2011).

Enzimas com potencial de degradar proteínas, as proteases, são utilizadas na indústria alimentícia, farmacêutica, de couro e química. Sua origem microbiana constitui 40% das proteases utilizadas mundialmente na indústria (CUZZI, 2011).

A urease é responsável pela hidrólise da ureia, formando amônia e dióxido de carbono, estando relacionada à formação de pedras nos rins e úlcera, assim como, é um fator de virulência dos microrganismos. Essa enzima é encontrada em bactérias, leveduras e plantas superiores. Nas bactérias, consiste de duas ou três subunidades diferentes, sendo necessária a ligação de dois íons de níquel por subunidade (SUJOY, 2013). Possui grande número de aplicações, como por exemplo, ecológicas, médicas e na agricultura, servindo como fator de

virulência nas infecções do trato urinário e gastrointestinal, na reciclagem de dejetos nitrogenados de gados e na transformação de compostos nitrogenados, assim como um indicador de resistências a fármacos entre grupos de bactérias (JABRI, 1995; VASCONCELOS, 2003; SUJOY, 2013). A ureia imobilizada também é utilizada na área médica para o diagnóstico e tratamento de doenças. Outras aplicações da enzima incluem o tratamento da hipertensão, a produção de vacinas, a utilização como agente anticâncer e na indústria de vinho (SUJOY, 2013).

Este trabalho teve como objetivo avaliar a produção enzimática dos actinomicetos isolados na área de manguezal da Baía de Paranaguá, e determinar possíveis substitutos para a indústria.

METODOLOGIA

Os actinomicetos avaliados foram isolados do solo de dois manguezais da Baía de Paranaguá. Esses microrganismos foram mantidos refrigerados à 4° C, em meio de cultura Ágar Amido Caseína.

O potencial de 10 actinomicetos (isolados 3A57, 3A83, 3A84, 3A85, 3P31, 4A1, 4A30, 4A63, 4A65 e 4P71) foram avaliados de acordo com a sua capacidade em produzir fosfolipase, amilase e protease. A metodologia de Price et. al (1982), com modificações, foi utilizada para avaliar a produção de fosfolipase. Os isolados foram inoculados em meio Sabouraud, suplementado com 2% de gema de ovo e incubados a uma temperatura de 37° C, por um período de 4 dias. A avaliação da atividade enzimática foi verificada pela formação de um halo transparente ou opaco ao redor da colônia.

Para a avaliação da atividade enzimática da urease, foi utilizado a metodologia de Christensen (1946). Os organismos foram inoculados em meio de cultura de Christensen líquido, em discos de 5 mm, em triplicata. A avaliação dos resultados foi feita após 6 dias de incubação, a uma temperatura de 37° C. Organismos positivos para a hidrólise da ureia produziam uma cor vermelho violeta característica. Para comparar os resultados dos isolados foram utilizados como controle positivo a ATCC do gênero *Klebsiella* e como controle negativo a ATCC *Candida albicans*.

A avaliação da produção da amilase foi realizada segundo Hankin e Anagnostakis (1975), no qual foi utilizado o meio mínimo, suplementado com amido solúvel 2% em pH 6,0. Os organismos foram inoculados em discos de 5mm e incubados por 7 dias a uma temperatura de 37 °C. Após o período, foi adicionado uma solução de lugol para revelar a área

**II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.**

de degradação da enzima, e calculado o índice enzimático. Foram utilizados como controle positivo *Bacillus cereus* e como controle negativo a ATCC 25922 *Escherichia coli*.

A avaliação da protease foi realizada com o meio de cultura descrito Hankin e Anagnostakis (1975), contendo 20g de gelatina, 50g de peptona e 30g de extrato de carne em 1 litro de água destilada. A atividade enzimática foi avaliada após 20 dias de incubação à 28° C. Após esse período, foram incubados por 24 horas à 4°C em geladeira. Foram classificados como positivos os actinomicetos onde o meio de cultura ficou líquido (hidrolisado) após ser incubado à 4°C. Foi utilizado como controle negativo a linhagem ATCC 25922 *Escherichia coli* e como controle positivo o fungo *Aspergillus niger*.

Para determinar a atividade enzimática (Pz), foi utilizado o método de Hankin e Anagnostakis (1975), na qual a atividade de cada espécie foi avaliada pela razão entre o diâmetro da colônia (dc) e o diâmetro do halo (dh). Os microrganismos com valores de $Pz = 1$ (Classe 1), foram classificados como negativos para produção da enzima. Valores de Pz entre 0,64 e 1 (Classe 2), foram classificados como positivo. E para valores menores que 0,64, foram classificados como fortemente positivos (Classe 3).

$$Pz = dc/dh$$

Sendo:

Pz: atividade enzimática

dc: diâmetro da colônia

dh: diâmetro do halo

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos indicaram a presença de microrganismos produtores de enzimas extracelulares com potencial biotecnológico, isolados de manguezais da Baía de Paranaguá.

As amilases, tem sido avaliadas pela sua utilização na indústria de detergentes, farmacêutica, fermentação de pães e cerveja, e do papel (CUZZI, 2011). Todos os isolados avaliados nesse estudo produziram amilase, no qual oito deles apresentaram produção fortemente positiva (Figura 1). Em ordem de classificação, os isolados fortemente positivos ($Pz=3$), foram 4A30, 3P31, 3A57, 4P71, 4A1, 3A83, 3A85, 3A84 e os isolados 4A63 e 4A65 foram classificados como positivos ($Pz=3$).

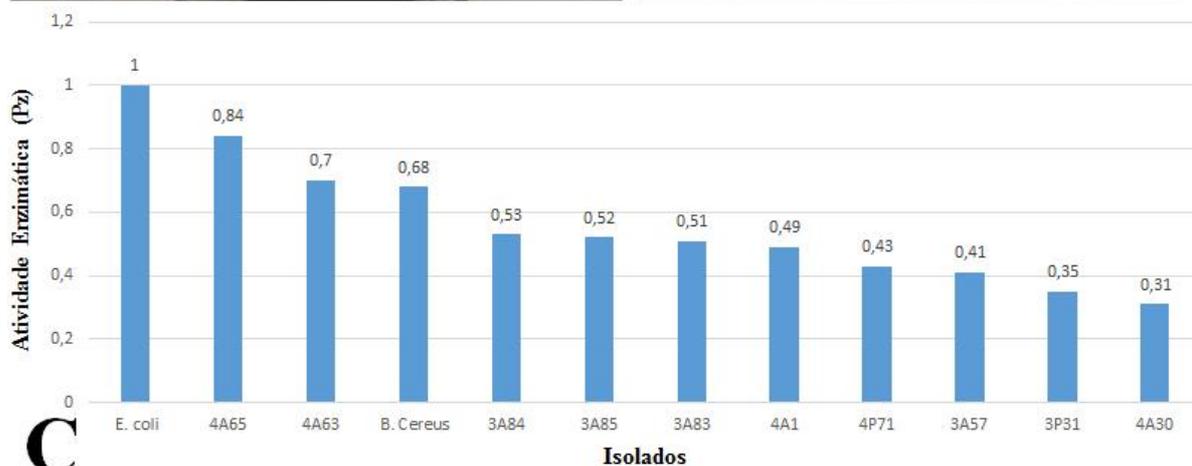
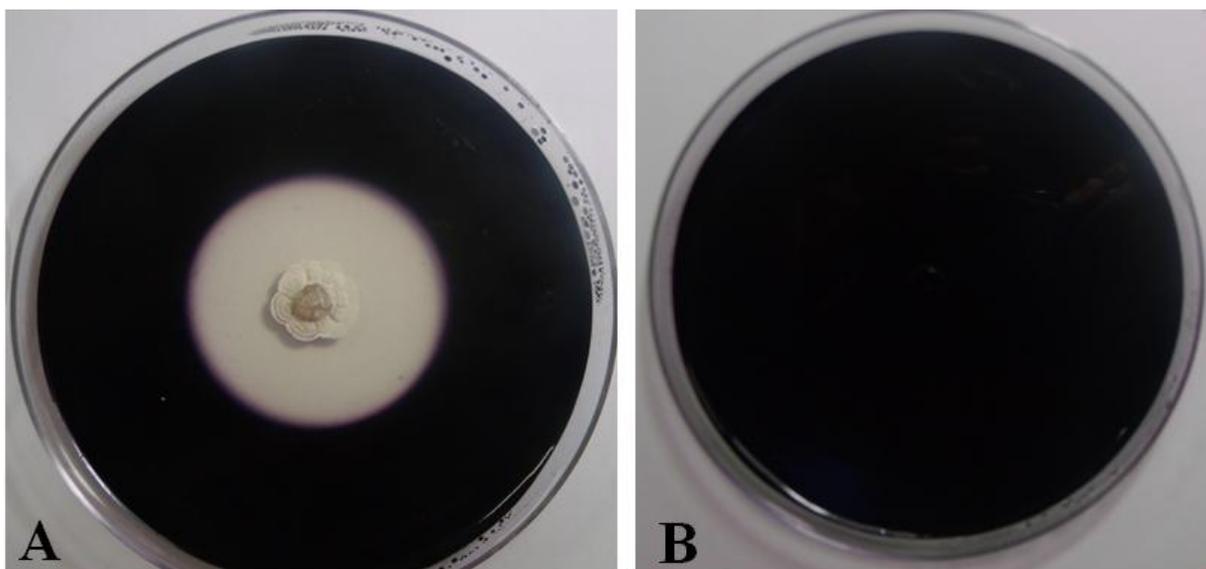


Imagem I: Potencial de degradação de amido por *Actinomyces* isolados do manguezal da Baía de Paranaguá. Controle positivo: *Bacillus cereus*. **A.** Resultado positivo, isolado 3P31R1; **B.** Controle negativo *Escherichia coli* (ATCC 25922); **C.** Índice enzimático em ordem decrescente.

Nota: Valores de 1 indicam que o isolado não produziu a enzima (Pz=1). Valores entre 0,9 e 0,65 mostram que os isolados são classificados como positivo para a enzima (Pz=2), e para valores abaixo de 0,64 são classificados como fortemente positivos (Pz=3).

Os resultados de degradação do amido avaliados corresponderam com os dados obtidos por RODRIGUES (2006) e SILVA (2015), os quais isolaram actinobactérias com potencial amilolítico, sendo bactérias do gênero *Streptomyces* as que apresentaram os melhores resultados.

Em relação a produção de fosfolipase, dos 10 actinomicetos avaliados, apenas o isolado 3A84 não apresentou potencial de degradar fosfolipídios (PZ = 1), conforme observado na Figura 2B. O potencial de produção de fosfolipase foi variável entre os nove isolados, sendo quatro com produção fortemente positiva da enzima: 4A1 (Figura 2A), 4A30,

**II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.**

3P31, 4A63 em ordem crescente de classificação (PZ = 3) e, cinco com produção positiva (PZ = 2): 3A85, 3A83, 4P71, 3A57 e 4A65.

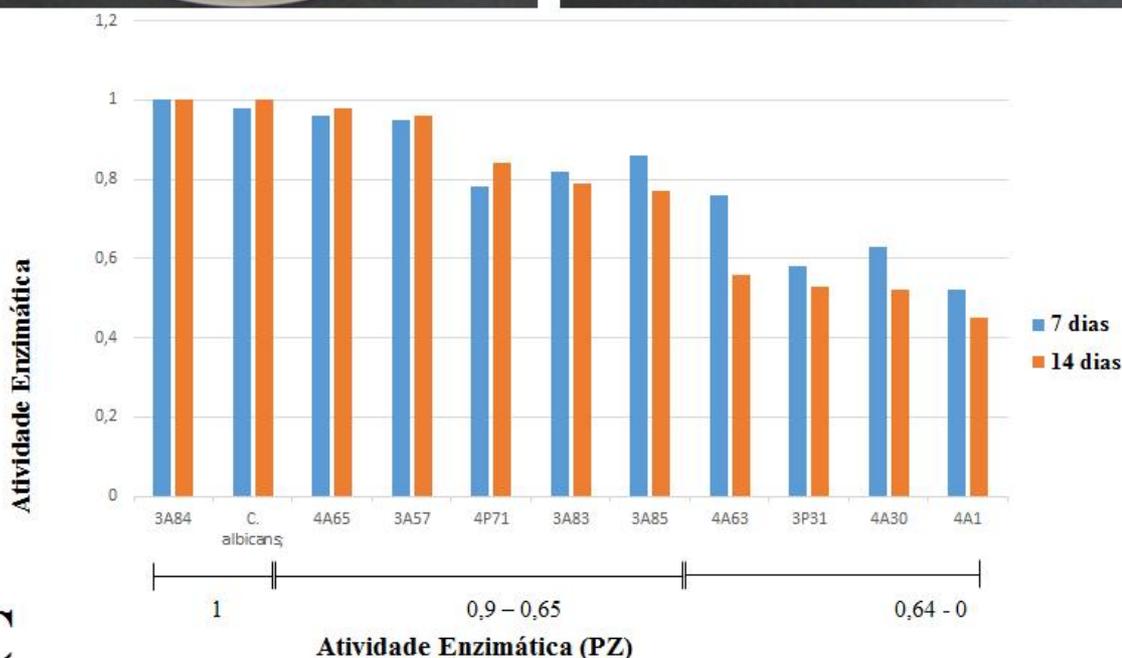
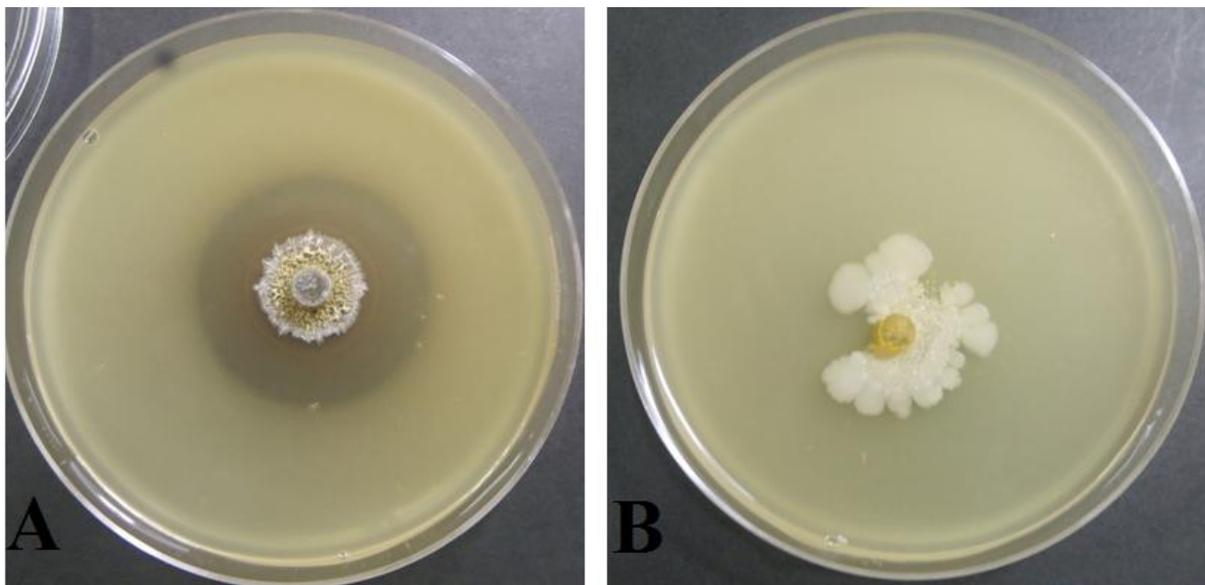


Imagem II: Potencial de degradação de fosfolípido por *Actinomyces* isolados do manguezal na Baía de Paranaguá. Controle positivo: *Candida albicans*. **A.** Resultado positivo, isolado 4A1R3; **B.** Resultado negativo isolado 3A84R1; **C.** Índice enzimático em ordem decrescente. Valores de 1 indicam que o isolado não produziu a enzima.

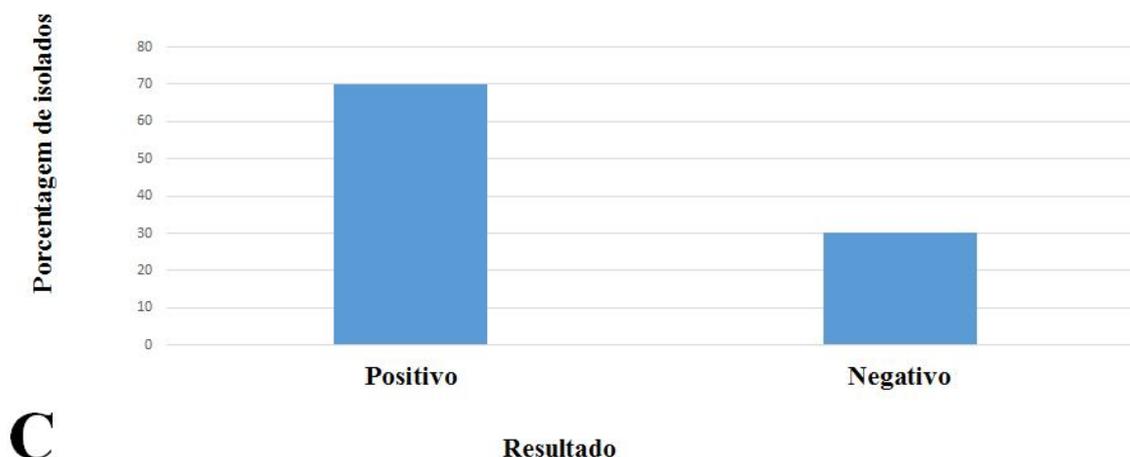
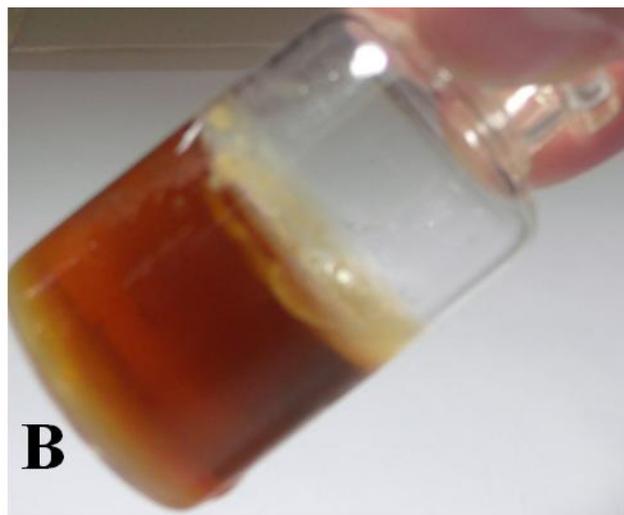
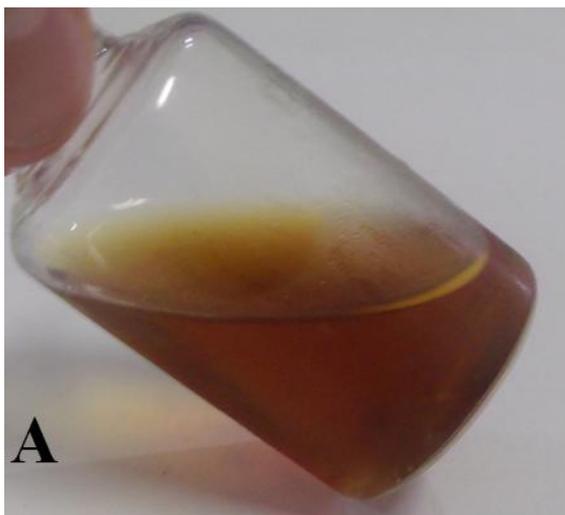
Nota: Valores de 1 indicam que o isolado não produziu a enzima (Pz=1). Valores entre 0,9 e 0,65 mostram que os isolados são classificados como positivo para a enzima (Pz=2), e para valores abaixo de 0,64 são classificados como fortemente positivos (Pz=3).

O potencial de degradação do fosfolípido foi avaliado com 7 e 14 dias. Em geral houve pouca variação no índice enzimático (IE) entre o período de avaliação, como por exemplo o isolado 3A83 que apresentou diferença de apenas 0,03. Entretanto, o isolado 4A63

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

apresentou uma diferença de 0,20 no IE entre o dia 7 e 14, passando de positivo para fortemente positivo (Figura 2C e Tabela 1). Os melhores resultados foram observados com sete dias de avaliação (Figura 2 C). De acordo com KATO (1984), bactérias do gênero *Streptomyces* são grandes produtoras de fosfolipase D, podendo também ser encontrada em outros grupos de actinomicetos. Durante sua avaliação, todos os isolados que apresentaram produção de fosfolipase eram actinomicetos.

Em relação a produção de protease pelos isolados do manguezal de Paranaguá, foram considerados como positivos os tubos que ficaram líquidos após 20 dias à 28° C, seguidos de incubação por 24 horas em geladeira. Os resultados indicaram que 70% dos isolados testados foram capazes de hidrolisar o meio de cultura, com exceção dos isolados 3A57, 3A84 e 4A65 que apresentaram resultados negativos (Figura 3 e Tabela 1). Os resultados obtidos estão similares ao de DUARTE (2009), que observou um número menor de isolados que degradam o substrato quando comparado com os outros testes, e que bactérias do gênero *Streptomyces* apresentam potencial de degradação.



II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

Imagem III: Potencial de degradação de proteínas por *Actinomyces* isolados do manguezal na Baía de Paranaguá. **A.** Resultados positivo, isolado 4A1R2; **B.** Controle negativo *Escherichia coli* (ATCC 25922); **C.** Porcentagem dos isolados com atividade proteolítica.

Analisando a produção de mais de uma enzima pelos actinomicetos isolados no manguezal da Baía de Paranaguá, em sua maioria, os isolados testados apresentaram a capacidade de produzir mais de um tipo de enzima (Tabela 1). Podemos destacar os isolados 4A30, 3P31 e 4A1 como os mais promissores, uma vez que apresentaram potencial proteolítico (PZ = 3), aminolítico (PZ = 3) e fosfolipídico (PZ = 3).

Dentre os 10 isolados avaliados observa-se que todos produziram amilase (8 em classe 3, Pz=3), 9 produziram fosfolipase (3 deles em classe 3) e 7 produziram protease, havendo uma predominância para produção da enzima amilase nos actinomicetos isolados no manguezal da Baía de Paranaguá.

Tabela 1. Índice enzimático (IE) e atividade enzimática (PZ) dos actinomicetos isolados do manguezal na Baía de Paranaguá com atividade amilolítica, fosfolipídica e proteolítica.

ÍNDICE ENZIMÁTICO E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DOS ACTINOMICETOS							
ISOLADOS	PROTEASE	AMILASE		FOSFOLIPASE			
		IE	PZ	IE (7 DIAS)	PZ (7 DIAS)	IE (14 DIAS)	PZ (14 DIAS)
4A30	+	0,31	3	0,63	3	0,52	3
3P31	+	0,35	3	0,58	3	0,53	3
4A1	+	0,49	3	0,52	3	0,45	3
4P71	+	0,43	3	0,78	2	0,84	2
3A83	+	0,51	3	0,82	2	0,79	2
3A85	+	0,52	3	0,86	2	0,77	2
4A63	+	0,70	2	0,76	2	0,56	3
3A57	-	0,41	3	0,95	2	0,96	2
3A84	-	0,53	3	1	1	1	1
4A65	-	0,84	2	0,96	2	0,98	2
<i>B. cereus</i> *	NA	0,68	2	NA	NA	NA	NA
<i>E. coli</i> *	-	1	1	NA	NA	NA	NA
<i>A. niger</i> *	+	NA	NA	NA	NA	NA	NA
<i>C. albicans</i> *	NA	NA	NA	0,98	2	1	1

Legenda: (+) positivo. (-) negativo. IE: Índice enzimático. PZ: Atividade Enzimática. NA: não avaliado. *linhagens utilizadas como controle.

Silva (2015), avaliou o potencial biotecnológico de actinomicetos indicando que as cepas com maior produção amilolítica eram do gênero *Streptomyces*, citando a sua possível

aplicação para melhorar a qualidade de solos degradados. Os dados obtidos neste trabalho, corroboram com os dados do autor, com a avaliação de bactérias do gênero *Streptomyces* e outros gêneros e a determinação de sua atividade enzimática.

Rodrigues (2006) e Duarte (2009), observaram que os isolados com maior capacidade de degradar o meio utilizado no teste da protease eram do gênero *Streptomyces*. Os actinomicetos não são microrganismos muito exigentes em relação aos nutrientes utilizados e a incapacidade de alguns isolados de hidrolisarem o substrato, pode estar relacionado ao meio de cultura utilizado.

Gulve (2011), relatou a presença de actinomicetos capazes de degradar fosfolipídeos e também, determinou a presença de actinomicetos isolados de solo e de água com tal capacidade. Também foi observado pelo autor a presença do gênero *Streptomyces* na degradação do substrato.

Desta forma, os resultados deste trabalho indicam fortemente a presença de isolados de solo com potencial biotecnológico para degradar o substrato.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente trabalho permitiram concluir a presença de actinomicetos isolados do manguezal de Paranaguá com potencial enzimático, proteolítico, aminolítico e fosfolipídico. Dentre os actinomicetos testados, os isolados 4A30, 3P31 e 4A1 se destacaram por apresentarem elevados índices enzimáticos para a amilase e fosfolipase, assim como para produção de protease.

Para o teste da fosfolipase, os resultados indicaram que há pouca diferença entre o período de incubação de 7 e 14 dias, com apenas alguns isolados com variação significativa. Esses isolados possuem um grande potencial biotecnológico para a produção industrial e para a saúde, sendo possível sua utilização na indústria alimentícia e farmacêutica, assim como para a identificação de doenças e produção de vacinas. A realização deste estudo permitiu evidenciar a diversidade de actinomicetos produtores de enzimas extracelulares presente na Baía de Paranaguá.

REFERÊNCIAS

CAMPOS, F. L., BARONI, F. A.; **Isolados de *Cryptococcus neoformans*, *C. gattii* E *C. laurentii* Produtores de protease e fosfolipase.** Revista de Patologia Tropical, v.39, p.83-89, abr-jun., 2010.

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

CUZZI, C., LINK, S., VILANI, A., ONOFRE, S. B.; **Enzimas extracelulares produzidas por fungos endofíticos isolados de *Baccharis dracunculifolia* D.C (Asteraceae).** Gl. Sci. Technol., v.04, n.02, p.47-57, mai-ago., 2011.

GULVE, R. M., DESHMUKH, A. M., **Enzymatic Activity of Actinomycetes Isolated from Marine Sediments.** Rec. Res. Sci. Tech., v. 3, p. 80-83, 2011.

JABRI, E., CARR, M. B., HAUSINGER, R. P., KARPLUS, P. A.; **The Crystal Structure of Urease from *Klebsiella aerogenes*.** Science, v.268, mai., 1995.

KATHIRESAN, K., BINGHAM, B. L.; **Biology of Mangroves and Mangrove Ecosystems.** Advances in Marine Biology, v.40, p.81-251, 2001.

KATO, S., KOKUSHO, Y., MACHIDA, H., IWASAKI, S., **Isolation and Identification of Phospholipase D Producing Actinomycetes.** Agric. Biol. Chem., v. 48, p. 2181 – 2188, 1984.

KO, W. HORA, F. K. **Production of phospholipases by soil microorganisms.** Soil Science, v. 110, n. 5, 1970.

MENEZES, E. A., CAVALCANTE, M. S., FARIAS, R. B., TEIXEIRA, A. B., PINHEIRO, F. G., BEZERRA, B. P., TORRES, J. C. N., CUNHA, F. A.; **Frequência e atividade enzimática de *Candida albicans* isoladas da mucosa bucal de crianças de uma creche da prefeitura de Fortaleza.** J. Bras. Patol. v.41, n.01, p.9-13, 2005.

MESSIAS, J. M., COSTA, B. Z., LIMA, V. M. G., GIESE, E. C., DEKKER, R. F. H., BARBOSA, A. M.; **Lipases Microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas.** Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina, v.32, n.2, p.213-234, 2011.

NAKAZAWA, Y., UCHINO, M., SAGANE, Y., SATO, H., TAKANO, K., **Isolation and characterization of actinomycetes strains that produce phospholipase D having high transphosphatidylase activity.** Microbiological Research, v. 164, p. 43-48, 2009.

ORLANDELLI, R. C., SPECIAN, V., FELBER, A. C., PAMPFILE, J. A.; **Enzimas de interesse industrial: Produção por fungos e aplicações.** Rev. Saúde e Biol., v.07., n.3, p.97-109, set-dez., 2012.

RODRIGUES, K.; **Identificação, produção de antimicrobianos e complexos enzimáticos de isolados de actinomicetos.** 2006. 119 f. Dissertação (Mestrado em Microbiologia Agrícola e do Ambiente). Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

SCHAEFFER-NOVELLI, Y., CINTRÓN-MOLERO, G., SOARES, M. L. G., DE-ROSA, T.; **Brazilian Mangroves.** Aquatic Ecosystem Health and Management, v.03, p.561-570, 2000.

SILVA, V. M. A., 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, 2015.

SOARES, I. A., FLORES, A. C., ZANETTIN, L., PIN, H. K., MENDONÇA, M. M., BARCELOS, R. P., TREVISOL, L. R., CARVALHO, R. D., SCHAUREN, D., ROCHA, C.

II Encontro Anual de Iniciação Científica
Universidade Estadual do Paraná
Campus Paranavaí, 25 a 27 de outubro de 2016.

L. M. S. C., BARONI, S.; **Identificação do potencial amilolítico de linhagens mutantes do fungo filamentosso *Aspergillus nidulans*.** Ciên. Tecnol. Aliment., Campinas, v.30; p.700-705, jul.-set., 2010.

SOUZA, C. G., BRAGA, R. M., AMORIM, V. F. S., JUNIOR, G. S. F., LOPES, V. R. O., MARTINS, S. C. S., PINTO, G. A. S., MARTINS, C. M.; **Atividade celulolítica de fungos isolados do solo do manguezal da Reserva Ecológica de Sapiroanga.** In: XXXII CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO. 2010. Uberlândia, 2010.

SUJOY, B., APARNA, A., Enzymology, **Immobilization and Applications of Urease Enzyme.** International Research Journal of Biological Science, v. 2, p. 51-56, jun. 2013.

VASCONCELLOS, W. E., RIOS, M. S., SOUZA, A. H., MEDEIROS, E. V., SILVA, G. M. C., MARACAJÁ, P. B.; **Caracterização bioquímica e enzimática de *Cunninghamella* isoladas de manguezal.** Revista de Biologia e Ciências da Terra, v.03, n.02, 2003.