
Bioprospecção de celulase em bactérias do solo da Mata Atlântica

Cellulase bioprospection In Atlantic Forest soil Bacteria

Yasmin Anunciato¹, Luciana Aparecida Avila Lee¹, Priscilla Dantas de Souza Ventura².

¹Curso de Ciências Biológicas da Universidade Paulista, Campus Santos-Rangel, Santos-SP, Brasil. ²Curso de Biomedicina da Universidade Paulista, Campos Santos-Rangel, Santos-SP, Brasil.

Resumo

Objetivo – analisar a produção de celulases por bactérias do solo da Mata Atlântica. **Métodos** – Para tanto, 68 linhagens bacterianas pertencentes à Coleção de bactérias da Mata Atlântica da UNIP Santos Rangel, isoladas em TSA e meio específico para actinobactéria (IPS3) foram testadas em meio Carboximetilcelulose, a fim de detectar a capacidade de degradação desse substrato. As linhagens foram incubadas por 48h a 28°C, no escuro. Para análise do resultado, foi adicionado solução de iodo. Após 2 horas, foi determinado o halo de degradação e calculado o índice enzimático. **Resultados** – A atividade celulolítica foi observada para 61,76% das bactérias testadas. Os maiores halos de degradação de celulose foram apresentados pelas actinobactérias ALA-1 e ALA-7, sendo de 5,63 cm e 5,43 cm, respectivamente. Porém, os maiores índices enzimáticos foram produzidos pelas actinobactérias ALA-18 e ALA-2. Dessa forma, podemos destacar o potencial de aplicação desse grupo de bactérias na indústria de bioetanol, dada a sensibilidade desse parâmetro de avaliação. **Conclusão** – Conforme o esperado, a Mata Atlântica mostrou-se uma importante fonte de bioprospecção de bactérias celulolíticas.

Descritores: Bactérias; Celulose; Bioprospecção; Ecossistema amazônico; Florestas

Abstract

Objective – To analyze the production of cellulase by bacteria from the soil of the Atlantic Forest. **Methods** – For the study, 68 bacterial strains from the Atlantic Forest Bacteria Collection of UNIP Santos Rangel, belonging as unique and specific to actinobacteria (IPS3) were both tested in Carboxy medium and applied in Carboxycellulose medium, a method in order to detect degradation of these bacteria. The strains were incubated for 48h at 28°C in the dark. For analysis the result was added iodine solution. After 2 hours, the degradation halo and enzyme index calculations were determined. **Results** - Cellulolytic activity was observed for 61.76% of the tests tested. The largest cellulose degradation halos were presented by the actinobacteria ALA-1 and ALA-7, being 5.63 cm and 5.43 cm, respectively. However, the highest enzymatic indices were through the actinobacteria ALA-18 and ALA-2. Thus, we can highlight the potential application of this group of bacteria in the bioethanol industry, given the sensitivity of this evaluation parameter. **Conclusion** – As expected, the Atlantic Forest proved to be an important source of bioprospecting for cellulolytic bacteria.

Descriptors: Bacteria; Cellulose; Bioprospecting; Amazon ecosystem; Forests

Introdução

O bioetanol de segunda geração é uma fonte de energia renovável, alternativa ao uso de combustíveis não renováveis, como os derivados do petróleo.¹

Obtido do bagaço da cana, o etanol de segunda geração, gera mais açúcar do que o caldo, o que aumenta a fabricação de etanol em até 50% sem precisar aumentar a área de cultivo¹. Nesse processo, para obter o bioetanol celulósico, há um pré-tratamento para hidrólise enzimática de polissacarídeos em dissacarídeos e monossacarídeos, para depois haver fermentação².

Enzimas celulolíticas “livres” agem sinergicamente para a degradação da celulose. Este sistema de enzimas é constituído por endoglicanases (EG), exoglucanases (CBH) e β -glucosidases, responsáveis pela hidrólise glicosídica³. A EG hidrolisa regiões amorfas da celulose gerando novos oligossacarídeos de tamanhos variados. A CBH atua em regiões redutoras e não redutoras liberando glicose ou celobiose, podendo acarretar desgaste da estrutura micro cristalina da celulose. Já as β -glucosidases hidrolisam os oligossacarídeos e celobioses em glicose⁴.

As celulases podem ser produzidas por uma grande variedade de microrganismos, como é o caso de algu-

mas bactérias anaeróbicas (*Clostridium*, *Rominococcus*, etc.) e bactérias aeróbicas como *Cellulomonas*, *Thermobifida*, *Pseudomonas*⁷ e ⁵. Fungos também são importantes fontes de enzimas celulolíticas, como as espécies *Lichtheimia ramosa*⁶ e *Aureobasidium pulluans*⁷.

O isolamento e estudo da atividade enzimática celulolítica microbiana pode reduzir custos do processo de obtenção do etanol de segunda geração e pode influenciar na redução do preço das enzimas celulolíticas comerciais⁸.

A Mata Atlântica é um *hotspot* de alta biodiversidade, podendo ser uma importante fonte de microrganismos celulolíticos. Ambientes pouco explorados ou com uma rica biodiversidade microbiana apresentam grande potencial para a descoberta de recursos de interesse comercial e científico⁹. Dessa forma, o objetivo do trabalho foi analisar a produção de enzimas celulolíticas por bactérias do solo da Mata Atlântica.

Métodos

Local de pesquisa

O projeto foi desenvolvido no laboratório de Análises Clínicas da Universidade Paulista - UNIP, campus Santos, Rangel.

Linhagens Bacterianas

Para a bioprospecção de enzimas celulolíticas foram testadas linhagens bacterianas isoladas do solo da Mata Atlântica, pertencentes à coleção de cultura de bactérias da UNIP Santos Rangel. As bactérias foram reativadas em meio TSA. As bactérias foram caracterizadas pela coloração de Gram¹⁰.

Análise da atividade celulolítica

Na avaliação da atividade celulolítica foi utilizado meio de cultura composto por: 1g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1g de K_2HPO_4 , 5g de MgSO_4 , 1 mg de NaCl , 15 g de ágar e 10g de carboximetil-celulose em 1 L de água destilada. Culturas com 24hs de crescimento foram inoculadas ao meio de cultura e incubadas por 3 dias ($\pm 28^\circ\text{C}$) no escuro. A atividade foi verificada pela observação de zonas alaranjadas ao redor da colônia, e medida do halo de degradação, após a aplicação da solução de iodo (2g de iodeto de potássio, 1g de iodo em 300 mL de água destilada) colocada sob a superfície das placas por um período de 2h¹¹. O teste foi realizado em triplicata.

Para determinação do índice enzimático, foi utilizada a seguinte equação: $\text{IE} = \text{Dh}/\text{Dc}$, sendo Dh o diâmetro do halo de degradação em mm) e DC, o diâmetro da colônia (mm), conforme Florêncio et al. (2012)¹¹.

Análise Estatística

Diferenças significativas entre as amostras foram determinadas pela análise de variância usando o Graph-Pad Prism 8.0.1. Foi utilizado o teste de Tukey a 5% (One way ANOVA) de probabilidade para comparação das médias dos diâmetros dos halos produzidos por cada bactéria.

Resultados

Nesta pesquisa, a atividade celulolítica foi caracterizada para 61,76% das bactérias avaliadas. Considerando apenas o grupo de actinobactérias, das 17 linhagens isoladas e codificadas com a sigla ALA, 58,8% apresentaram atividade celulolítica (Tabela 1).

As linhagens ALA-1 (Figura 1), ALA-2, ALA 7, S2-31A e S2-53 produziram os maiores halos de degradação de celulose (Tabela 1), com médias superiores a 5 cm. No entanto, considerando-se o diâmetro da colônia, verificaram-se maiores índices enzimáticos (IE) para as actinobactérias ALA-2 e ALA-18 (a média dos halos de degradação dessas linhagens não diferem estatisticamente, valor $p \leq 0,05$) (Tabela 2 e Gráfico 1). Dentre 40 linhagens analisadas, 82,5% (33 linhagens) apresentaram $\text{IE} \geq 2,0$.

O teste de Gram (Tabela 3) para a caracterização bioquímica e morfológica revelou a predominância de bactérias (37 linhagens) classificadas como Gram positivas e apenas 3 linhagens Gram negativas, apresentando coloração rosada.

Neste estudo, dentre as bactérias celulolíticas, pudemos caracterizar, morfológicamente: cocos, diplococos, estreptococos, bacilos, estreptobacilos, bactérias fila-

mentosas (actinobactérias), sendo as duas últimas as formas prevalentes.

Conforme análise estatística, as linhagens ALA-1, ALA-02, ALA-07, ALA-18 e S1-20B, S2-31^a e S2-53, que apresentaram os maiores halos, não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si, nas médias dos halos de degradação (Gráfico 1).

Discussão

Os resultados revelaram o potencial biotecnológico para a produção de celulasas em 61,76% das 68 bactérias cultivadas em meio CMC.

Microrganismos celulolíticos são indispensáveis para a produção de biocombustível de segunda geração. O pré tratamento enzimático do bagaço da cana de açúcar por microrganismos celulolíticos libera açúcares fermentescíveis, que são convertidos por catalisadores microbianos em etanol aumentando a área de superfície do carboidrato para a sacarificação enzimática¹².

Apesar das linhagens ALA-1, ALA-2, ALA 7, S1-14A, S2-31A e S2-53 de produzirem os maiores halos de degradação de celulose, quando avaliado o índice de degradação, os melhores resultados de atividade celulolítica foram obtidos para as actinobactérias ALA-2 e ALA-18, cujos índices de degradação de celulose foram de 6,1 e 6,25 respectivamente.

Com halo de degradação de 5,23 cm, a bactéria S2-53 apresentou índice de degradação inferior a dois, demonstrando a importância em se analisar o índice enzimático para determinar a atividade celulolítica.

Em nosso estudo, 82,5% das actinobactérias analisadas apresentam $\text{IE} \geq 2$. Queiroz (2002) 13 isolou 27 linhagens de actinobactérias de efluentes de fabricas de papel também obtendo um resultado promissor, onde 63% apresentaram $\text{IE} \geq 2$, em decorrência da concentração de celulose no efluente. Da Silva Albuquerque et al. (2016) 14 em seu estudo analisou 24 cepas de actinobactérias, coletadas no município de Quixadá, CE, em uma região semiárida do Nordeste brasileiro onde se destacaram as cepas AQ48, AQ46 e AQ27 cujos valores foram de IE foram $2,73 \pm 0,32$; $2,61 \pm 0,30$ e $2,52 \pm 0,29$, respectivamente. Os valores encontrados são inferiores aos das actinobactérias ALA-01, ALA-02 e ALA-18 destacadas neste presente estudo (Tabela 4).

Fungos são conhecidos por seu potencial enzimático em degradar celulose e lignocelulose, no entanto, quinze fungos do solo da floresta amazônica,¹⁵ em meio contendo apenas o CMC como substrato, quando comparados ao presente estudo tiveram índices inferiores. Fungos com maior atividade enzimática apresentaram halos de degradação alcançando 1,4 a 1,6 cm de diâmetro, enquanto em nosso estudo, as bactérias alcançaram halos de degradação de até 5,3 cm de diâmetro. Um estudo¹⁶ analisou linhagens de fungos isolados da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, SP, onde registraram IE de até 6,00, inferior a linhagem ALA-18 deste estudo com IE de 6,25.

Em nosso estudo, 58,8% das actinobactérias da Mata Atlântica apresentaram atividade celulolítica, das quais

Tabela 1. Atividade celulolítica de bactérias do solo da Mata Atlântica

Linagem	Média*	Desv. P.	Linagem	Média*	Desv. P.	Linagem	Média	Desv. P.
ALA-01	5,63	0,15	S1-8B	3,50	0,50	S2-1B2	0,00	0,00
ALA-01 ^a	0,00	0,00	S1-09	4,57	0,12	S2-2 ^a	0,00	0,00
ALA-01B	3,10	0,46	S1-11 ^a	0,00	0,00	S2-4	1,77	0,21
ALA-02	5,17	0,29	S1-11B	0,00	0,00	S2-12	0,00	0,00
ALA-07	5,43	0,81	S1-11BX	3,03	0,25	S2-15	0,00	0,00
ALA-08	0,00	0,00	S1-14 ^a	4,00	0,87	S2-24	0,00	0,00
ALA-10	4,00	1,00	S1-14B	0,00	0,00	S2-29	2,40	0,36
ALA-10 ^a	0,00	0,00	S1-14C	1,73	0,46	S2-31 ^a	5,33	0,76
ALA-10B	0,00	0,00	S1-17	1,70	0,20	S2-34	2,00	0,00
ALA-11	0,00	0,00	S1-18	1,23	0,32	S2-39	0,00	0,00
ALA-14	1,17	1,11	S1-19	2,07	0,25	S2-42B	0,00	0,00
ALA-15	0,00	0,00	S1-19 ^a	0,00	0,00	S2-48B	1,53	0,06
ALA-16	0,00	0,00	S1-19B	2,40	0,36	S2-49	1,67	0,80
ALA-18	4,50	0,50	S1-20 ^a	0,00	0,00	S2-50	0,00	0,00
ALA-19	0,60	0,10	S1-20B	4,50	0,87	S2-51	2,67	0,15
ALA-20	3,83	0,76	S1-21	0,00	0,00	S2-53	5,23	0,87
ALA-23	1,33	0,29	S1-21 ^a	0,00	0,00	S2-89B	1,57	0,21
S1-01	2,87	0,21	S1-21B	1,60	0,26	S3-11B	2,83	0,15
S1-1 ^a	3,07	0,40	S1-22	1,03	0,15	S3-13B	2,10	0,46
S1-1B2	0,00	0,00	S1-23	0,00	0,00	S3-13C	1,37	0,15
S1-03	2,23	0,25	S1-24	0,00	0,00	S3-19	2,00	0,46
S1-04	2,03	0,00	S1-25	1,97	0,29	S3-24	0,00	0,00
S1-8 ^a	1,90	0,10	S1-30B	3,23	0,25			

* Medida do halo em cm

Tabela 2. Índice enzimático (IE) de celulase produzida por bactérias selecionadas do solo da Mata Atlântica

Linagem	IE Média	Linagem	IE Média	Linagem	IE Média	Linagem	IE Média
ALA-01	5,00	S1-03	4,00	S1-19	2,57	S2-34	1,46
ALA-1B	3,02	S1-04	2,71	S1-19B	3,50	S2-48B	4,50
ALA-02	6,10	S1-8A	2,77	S1-20B	4,00	S2-51	1,20
ALA-07	2,33	S1-8B	3,30	S1-21B	2,72	S2-53	2,93
ALA-10	2,00	S1-09	2,50	S1-22	2,50	S2-89B	1,66
ALA-14	2,00	S1-11BX	4,00	S1-25	2,75	S3-11B	1,87
ALA-18	6,25	S1-14A	2,50	S1-30B	5,00	S3-13B	2,53
ALA-19	1,75	S1-14C	2,66	S2-4	1,66	S3-13C	3,00
ALA-23	1,30	S1-17	2,87	S2-29	2,90	S3-19	4,50
S1-01	3,31	S1-18	2,50	S2-31A	2,31		2,66

* IE= diâmetro do halo de degradação do substrato / diâmetro da colônia em mm

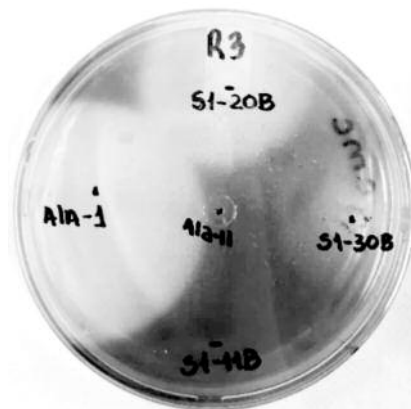


Figura 1. Produção de celulase pelas linhagens ALA-1, S1-20B e S1-30B, caracterizada pelo halo de degradação. As bactérias ALA-11 e S1-11B não apresentaram atividade celulolítica.

Tabela 3. Gram das bactérias selecionadas do solo da Mata Atlântica

Linhagem	Gram	Morfologia	Linhagem	Gram	Morfologia
ALA-01	+	Filamentosa*	S1-19	+	Estreptobacilo
ALA-1B	+	Bacilo	S1-19B	+	Estreptococo
ALA-02	+	Diplococo	S1-20B	+	Estreptococo
ALA-07	+	Filamentosa *	S1-21B	+	Estrafilococo
ALA-10	+	Filamentosa *	S1-22	+	Filamentosa*
ALA-14	+	Filamentosa *	S1-25	+	Estreptobacilo
ALA-18	+	Filamentosa *	S1-30B	+	Filamentosa*
ALA-19	+	Estreptobacilo	S2-4	+	Filamentosa*
ALA-23	-	Cocos	S2-29	+	Filamentosa*
S1-01	+	Estreptococo	S2-31 ^a	+	Estreptococo
S1-03	+	B.E.**	S2-34	+	Estreptobacilo
S1-04	+	Filamentosa*	S2-48B	+	Estreptobacilo
S1-8 ^a	+	Estreptococo	S2-49	+	Filamentosa*
S1-8B	+	Estreptobacilo	S2-51	+	Estreptobacilo
S1-09	+	Filamentosa*	S2-53	+	Estrafilococo
S1-11BX	+	Filamentosa*	S2-89B	+	Filamentosa*
S1-14 ^a	-	Coco	S3-11B	+	Estreptobacilo
S1-14C	+	Estreptobacilo	S3-13B	+	Filamentosa*
S1-17	+	Estreptobacilo	S3-13C	+	Estreptobacilo
S1-18	-	Bacilo	S3-19	+	Estreptoco

* - Actinobactéria

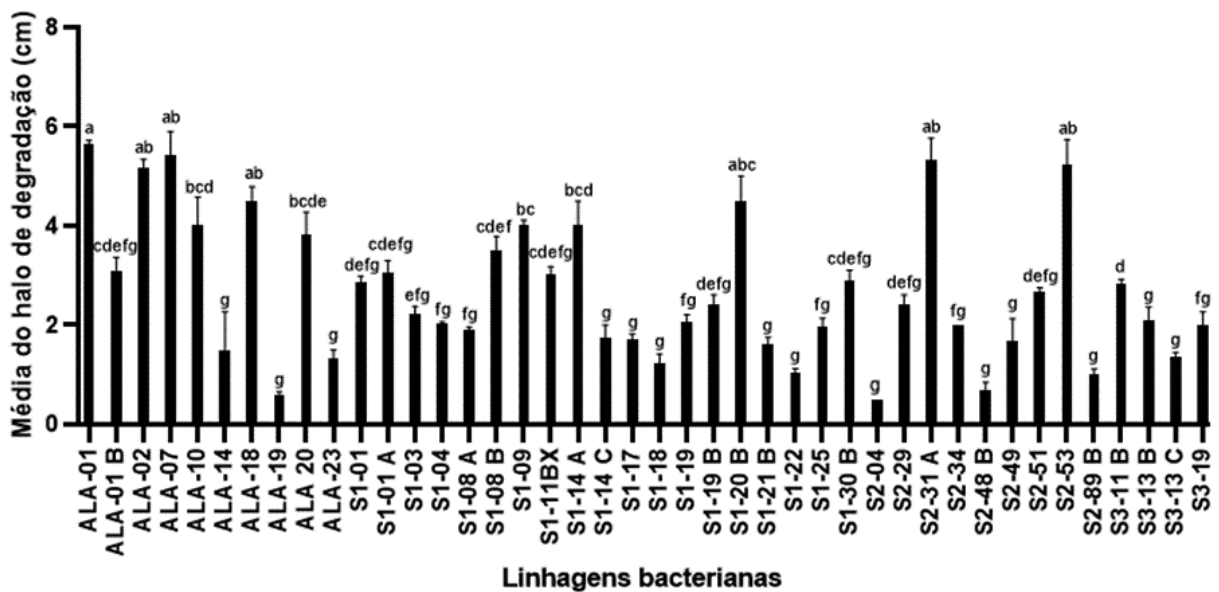


Gráfico 1. Comparação estatística dos halos de degradação produzidos pelas linhagens bacterianas produtoras de halo de degradação. Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si, de acordo com o teste de Tukey ($p \leq 0,05$)

23,5% apresentaram índice enzimático variando entre 3,0 e 6,25. Em diferentes solos da Malásia, a atividade celulolítica foi observada para 35% das actinobactérias isoladas, das quais 3,2% mostraram índice enzimático entre 3,0 e 4,6.¹⁷ Podemos considerar¹⁸ um micro-organismo como produtor potencial de enzimas em meio sólido, quando este apresenta um índice enzimático \geq 2,0. Neste contexto, todas as actinobactérias aqui testadas, produtoras de celulase, podem ser consideradas como produtoras potenciais da enzima.

Além das actinobactérias, 62,74% das 51 bactérias não filamentosas isoladas em meio TSA também demonstraram capacidade em degradar a celulose. A estratégia de bioprospecção de bactérias celulolíticas em solo de Mata Atlântica obteve uma frequência de bactérias degradadoras duas vezes maior a do estudo 19 que teve como fonte de bioprospecção frutos típicos do Cerrado mineiro, em que foi obtido 30% de bactérias produtoras de celulase.

Dentre as linhagens de solo de Mata Atlântica isoladas em TSA, a S2-31A produziu o maior halo de degradação, porém um índice de degradação de apenas 2,31. A S1-30B apresentou o maior índice enzimático (5,0) dentre as bactérias totais.

Grande parte dos microrganismos celulolíticos concentra-se no domínio Bacteria, nas Ordens Firmicutes, Clostridiales e Actinomycetales, ambas Gram positivas, correspondendo aos dados obtidos no presente estudo, com a predominância de 92,5% de bactérias celulolíticas Gram-positivas e especialmente actinobactérias, cujo o potencial biotecnológico de actinobactérias descrito na literatura fornece dados sobre a atividade enzimática de interesse industrial para antibióticos, biofertilizantes, antitumorais, entre outras, mostrando o alto potencial desse microrganismo.^{8, 20}

A Mata Atlântica possui estudos escassos sobre a microbiologia de seu solo, porém demonstra alta variabilidade espacial na composição da comunidade microbiana^{21, 22}. Sabendo-se da importância da descoberta de novas celulases, termoestáveis, com grande atividade enzimática, características estas, de alto interesse industrial, para produção de biocombustíveis, podendo ainda ser aplicadas na agricultura, para controle biológico, pela utilização de microrganismos capazes de degradar a parede celulósica de fitopatógenos como *Pythium aphanidermatum*, que causa tombamento em várias culturas agrícolas.²³

Conclusões

Foi possível concluir que a grande biodiversidade da Mata Atlântica abriga microrganismos celulolíticos altamente capazes de degradar a celulose, sendo esta atividade evidenciada pelos altos índices enzimáticos e grandes halos de degradação de celulose produzidos pelos isolados bacterianos.

Algumas bactérias isoladas da serapilheira desse hotspot, com destaque para as linhagens ALA-2, ALA 7, ALA-18, S1-14A, S1-30B, S2-31A e S2-53, alcançam potencial celulolítico para serem estudadas e empre-

gadas na indústria, juntamente com os conhecimentos biotecnológicos para assim serem aplicadas na produção de bioetanol de segunda geração, barateando a produção, tornando-a eco eficiente.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao apoio financeiro fornecido pela Universidade Paulista para a realização deste.

Referências

1. Rosa SES, Garcia JLF. O etanol de segunda geração: limites e oportunidades. Rio de Janeiro: Banco Nacional de Desenvolvimento Econômico e Social; 2009.
2. Sorensen A, Teller P, Hilstrom T, Ahring B. Hydrolysis of *Miscanthus* for bioethanol production using dilute acid presoaking combined with wet explosion pre-treatment and enzymatic treatment. *Bioresource Technol.* 2008;99(14):6602-7. doi: 10.1016/j.biotech.2007.09.091.
3. Srivastava N, Srivastava M, Alhazmi A, Kausar T, Haque S, Singh R., et al. Technological advances for improving fungal cellulase production from fruit wastes for bioenergy application: A review. *Environ Pollut.* 2021;287:117370. doi: 10.1016/j.envpol.2021.117370.
4. Lynd LR; Weimer P J; Van ZYL W; Pretorius IS. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2002; 66: 506-77. Doi: 10.1178/mmbr.66.3.503-577.2002.
5. Gonçalves FA. Bioprospecção de microrganismos produtores de celulases e hemicelulases e sua avaliação sobre a produção de etanol a partir de bagaço de cana-de-açúcar [Dissertação de mestrado em ciência e tecnologia ambiental]. Dourados, MS: Universidade Federal da Grande Dourados faculdade de ciências exatas e tecnologias; 2011.
6. Ribeiro Leite RS, Alves-Prado HF, Cabral H, Pagnocca FC, Gomes E, Da-Silva R. Production and characteristics comparison of crude β -glucosidases produced by microorganisms *Thermoascus aurantiacus* e *Aureobasidium pullulans* in agricultural wastes. *Enzyme Microbial Technol.* 2008;43(6):391-5.
7. van Nieuwenhuijzen, EJ, *Aureobasidium*. In *Encyclopedia of Food Microbiology* (2nd ed.), 2014, p. 106-9.
8. Ryckeboer J, Mergaert J, Coosemans J, Deprins K, Swings J. Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost bin. *J Appl Microbiol.* 2003;94(1):127-37. doi: 10.1046/j1365-2672.2003.01800.x.
9. Gonçalves FA. Bioprospecção de microrganismos produtores de celulases e hemicelulases e sua avaliação sobre a produção de etanol a partir de bagaço de cana-de-açúcar [dissertação de mestrado em ciência e tecnologia ambiental]. Dourados, MS: Universidade Federal da Grande Dourados faculdade de ciências exatas e tecnologias; 2011.
10. Coico R. Gram Staining. *Curr Protocols Immunol.* 1997; 23(1).
11. Florencio C, Couri S, Farinas CS. Correlation between agar plate screening and solid-state fermentation for the prediction of cellulase production by trichoderma strains. *Enzyme Res [Internet].* 2012 [acesso 30 mar 2022];2012:1-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2012/793708>.
12. Robak K, Balcerek M. Review of second generation bioethanol production from residual biomass. *Food Technol Biotechnol.* 2018;56(2):174-87. doi: 10.17113/ftb.56.02.18.5428.
13. Queiroz GO, Jordão RCC, Salgueiro AA. Seleção de micro-

- rganismos produtores de celulases e de lacases a partir de efluente de fábrica de papel. *Rev Quím Tecnol.* 2002;1(1):7-10.
14. Silva Albuquerque GH, Nascimento Costa F, Rodrigues Brasil SN, Silva VMA, Silveira Martins SC, editores. *Atividade celulolítica de actinobactérias de solo do semiárido brasileiro*. Conidis, In : *Anais do I Congresso Internacional da Diversidade do Semiárido*, Fortaleza, CE: Universidade Federal do Ceará, UFC: 2016.
15. Hargreaves PI. *Bioprospecção de novas celulases de fungos provenientes da Floresta Amazônica e otimização de sua produção sobre celulignina de bagaço de cana [dissertação de mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos na]*. Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2008.
16. Ruegger Marcelo J.S., Tauk-Tornisielo Sâmia M. *Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins, São Paulo, Brasil*. *Rev Bras Bot.* 2004; 27(2): 205-11.
17. Jeffrey L.S.H, Azrizal MR. *Screening for cellulase activities in actinomycetes isolated from different locations of Peninsular Malaysia*. *J Trop Agric Food Sci.* 2007; 35:153-7.
18. Fabino Neto R, Silva TD, Abrão FO, Ferreira JC, Batista LH, Silva BC. *Avaliação in vitro de fungos ruminais como probiótico para ovinos em dieta de alto grão*. *Braz J Dev.* 2020;6(7):53642-56.
19. Dias, M. *Diversidade e produção de celulases por bactérias epifíticas de frutos típicos do cerrado mineiro*. 2012. 110 p. (dissertação de mestrado em Microbiologia Agrícola). Lavras: Universidade Federal de Lavras; 2012.
20. van Bergeijk DA, Terlouw BR, Medema MH, van Wezel GP. *Ecology and genomics of Actinobacteria: new concepts for natural product discovery*. *Nat Rev Microbiol.* 2020;18(10):546-58. doi: 10.1038/s41579-020-0379-y.
21. Santos EC, Armas ED, Crowley D, Lambais MR. *Artificial neural network modeling of microbial community structures in the Atlantic Forest of Brazil*. *Soil Biol Biochem.* 2014;69:101-9.
22. Etto R, Jesus E, Cruz L, Schneider B, Tomachewski D, Urrea-Valencia S, et al. *Influence of environmental factors on the tropical peatlands diazotrophic communities from the Southern Brazilian Atlantic Rain Forest*. *Lett Appl Microbiol*, 2022, 74: 543-54.
23. Canova SP. *Diversidade e bioprospecção de actinobactérias isoladas de Manguezais [mestrado em biotecnologia]*. São Paulo. Universidade de São Paulo; 2009. DOI: 10.11606/D.87.2009.tde-08052009-092624

Endereço para correspondência:

Yasmin Annunciato
Rua Rui Barbosa, 268
Praia Grande-SP, CEP 11700-170
Brasil

E-mail: yasnunci@gmail.com

Recebido em 12 de junho de 2022.
Aceito em 9 de agosto de 2022.