



UEPB

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS I – CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

ÁGDA SOFIA GUEDES DUARTE DO BÚ

**ANÁLISE FUNCIONAL E MODELOS TRIDIMENSIONAIS DA CELULASE DE
Gluconacetobacter diazotrophicus PAL 5**

**CAMPINA GRANDE - PB
2024**

ÁGDA SOFIA GUEDES DUARTE DO BÚ

**ANÁLISE FUNCIONAL E MODELOS TRIDIMENSIONAIS DA CELULASE DE
Gluconacetobacter diazotrophicus PAL 5**

Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo) apresentado a Coordenação do Curso de Ciências Biológicas da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses.

Coorientadora: Profa. Dra. Nathalia Maíra Cabral de Medeiros.

**CAMPINA GRANDE - PB
2024**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

B917a Bu, Agda Sofia Guedes Duarte do.

Análise funcional e modelos tridimensionais da celulase de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5 [manuscrito] / Agda Sofia Guedes Duarte do Bu. - 2024.

32 p. : il. colorido.

Digitado. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2024. "Orientação : Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses, Departamento de Biologia - CCBS. " "Coorientação: Profa. Dra. Nathalia Maíra Cabral de Medeiros , UFRN - Universidade Federal do Rio Grande do Norte "

1. Endofítica. 2. FBN. 3. Interação. 4. Endo. 5. Beta-glucanase. I. Título

21. ed. CDD 570

ÁGDA SOFIA GUEDES DUARTE DO BÚ

ANÁLISE FUNCIONAL E MODELOS TRIDIMENSIONAIS DA CELULASE DE
Gluconacetobacter diazotrophicus PAL 5

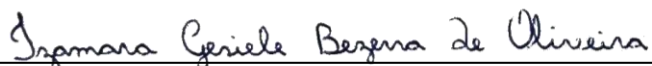
Trabalho de Conclusão de Curso (Artigo)
apresentado a Coordenação do Curso de
Ciências Biológicas da Universidade
Estadual da Paraíba, como requisito
parcial à obtenção do título de
Licenciatura em Ciências Biológicas.

Aprovada em: 27 / 06 / 2024.

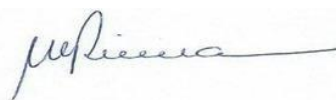
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha de Meneses (Orientador)
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Prof. Me. Izamara Gesiele Bezerra de Oliveira
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)



Profa. Prof. Dra. Maria José Lima da Silva
Universidade Estadual da Paraíba (UEPB)

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	11
Figura 2 -	Domínios conservados das proteínas celulasas pertencentes a espécies de bactérias.....	19
Figura 3 -	Modelo tridimensional da proteína precursora de endoglucanase de <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAL 5, relacionada à Endo-1,4-beta-glucanase.....	20
Figura 4 -	Comparação das estruturas tridimensionais de celulasas de diferentes organismos.....	21
Figura 5 -	Sobreposição tridimensional das estruturas de celulase de diferentes organismos.....	23

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 - Modificações pós-traducionais das sequências de celulase em espécies de bactérias.....
16
- Tabela 2 - Análise do percentual de identidade da celulase de bactérias em relação a celulase de *G. diazotrophicus*..... 18

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	REVISÃO DE LITERATURA	9
2.1	Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP)	9
2.2	Aspectos gerais da Interação bactéria-planta	10
2.3	<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> PAL5	11
2.4	Celulase	12
3	OBJETIVOS	14
3.1	Objetivo Geral	14
3.2	Objetivos específicos	15
4	MATERIAIS E MÉTODOS	15
4.1	Análise funcional da celulase	15
4.2	Identificação da sequência e similaridade entre as espécies	15
4.3	Construção do modelo tridimensional	15
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	15
5.1	Análise Funcional da celulase	15
5.2	Análise do modelo tridimensional da celulase	20
6	CONCLUSÃO	23
	REFERÊNCIAS	24
	AGRADECIMENTOS	30

ANÁLISE FUNCIONAL E MODELOS TRIDIMENSIONAIS DA CELULASE DE *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5

Ágda Sofia Guedes Duarte do Bú*
Prof. Dr. Carlos Henrique Salvino Gadelha Meneses**

RESUMO

Bactérias promotoras de crescimento de plantas são essenciais para o desenvolvimento vegetal, atuando diretamente na facilitação do acesso a nutrientes e na produção de fitormônios, ou indiretamente, através do controle biológico de patógenos. A *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5 é um exemplo emblemático, tolerando altas concentrações de oxigênio e contribuindo para a fixação biológica de nitrogênio (FBN), além de participar no metabolismo de carboidratos, na produção de gluconacina e na biossíntese de auxinas - processos que amplificam seu efeito positivo no crescimento e saúde vegetal. Estudos apontam que a celulase, especificamente a Endo-1,4-beta-glucanase, é vital para *G. diazotrophicus* PAL 5, desempenhando um papel chave na decomposição da celulose e influenciando as interações planta-microrganismo. A bioinformática surge como ferramenta indispensável para desvendar essas interações complexas, impulsionando o progresso em pesquisas biotecnológicas e no entendimento de enzimas como a Endo-1,4-beta-glucanase. O foco deste estudo é elucidar a interação entre *G. diazotrophicus* PAL 5 e as plantas, centrando-se na Endo-1,4-beta-glucanase para ampliar a compreensão sobre o estímulo ao crescimento vegetal promovido pela bactéria. Métodos bioinformáticos para análise funcional da enzima foram utilizados, empregando ferramentas como CD-Search, Prosite, Interpro e Psipred, além da construção de um modelo tridimensional da celulase via homologia na plataforma SWISS-MODEL. Os resultados obtidos indicam uma notável conservação da sequência da celulase dentro do gênero *Gluconacetobacter*, além de evidenciar a preservação da estrutura tridimensional da enzima, mesmo em grupos de organismos que ocupam nichos ecológicos distintos de *G. diazotrophicus*. Essas descobertas sublinham a importância evolutiva e funcional da celulase, sugerindo um papel central na adaptação e interação desses microrganismos com seus ambientes e hospedeiros, potencializando a aplicabilidade biotecnológica.

Palavras-Chave: Endofítica; Endo-1,4-beta-glucanase; FBN; Interação.

ABSTRACT

Growth-promoting bacteria are essential for plant development, acting directly in facilitating access to nutrients and in the production of phytohormones, or indirectly, through the biological control of pathogens. *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5

* Departamento de Biologia, Universidade Estadual da Paraíba, 58429-000, Campina Grande – PB, Brasil. Agda.bu@aluno.uepb.edu.br

** Departamento de Biologia e Programa de Pós-graduação em Ciências Agrárias, Universidade Estadual da Paraíba, 58429-000, Campina Grande – PB. Carlos.meneses@gsuite.uepb.edu.br.

is an emblematic example, tolerating high concentrations of oxygen and contributing to biological nitrogen fixation (BNF), in addition to participating in carbohydrate metabolism, gluconacin production and auxin biosynthesis - processes that amplify its effect positive for plant growth and health. Studies indicate that cellulase, specifically Endo-1,4-beta-glucanase, is vital for *G. diazotrophicus* PAL 5, playing a key role in the decomposition of cellulose and influencing plant-microorganism interactions. Bioinformatics emerges as an indispensable tool for unraveling these complex interactions, driving progress in biotechnological research and in the understanding of enzymes such as Endo-1,4-beta-glucanase. The focus of this study is to elucidate the interaction between *G. diazotrophicus* PAL 5 and plants, focusing on Endo-1,4-beta-glucanase to broaden the understanding of the stimulus to plant growth promoted by the bacterium. We used bioinformatics methods for functional analysis of the enzyme, using tools such as CD-Search, Prosite, Interpro and Pspred, in addition to building a three-dimensional model of Cellulase via homology on the SWISS-MODEL platform. The results obtained indicate a remarkable conservation of the cellulase sequence within the genus *Gluconacetobacter*, in addition to showing the preservation of the three-dimensional structure of the enzyme, even in groups of organisms that occupy ecological niches different from *G. diazotrophicus*. These findings highlight the evolutionary and functional importance of cellulase, suggesting a central role in the adaptation and interaction of these microorganisms with their environments and hosts, enhancing biotechnological applicability.

Keywords: Endophytic; Endo-1,4-beta-glucanase; FBN; Interaction.

1 INTRODUÇÃO

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) podem ser classificadas como residentes epifíticas ou endofíticas e são caracterizadas por sua natureza não patogênica. Elas desempenham um papel essencial na promoção do crescimento vegetal, seja de maneira direta, através da facilitação do acesso a nutrientes e da produção de fitormônios, ou indiretamente, por meio do controle biológico de patógenos que afetam as plantas (Kumar et al., 2018). Esses microorganismos proporcionam benefícios significativos ao desenvolvimento das plantas, como o aumento da absorção de nutrientes e a redução dos efeitos negativos de agentes patogênicos (Bloemberg & Lugtenberg, 2001; Vessey, 2003).

Ademais, as BPCP são frequentemente utilizadas como biofertilizantes, destacando-se pela sua capacidade de aumentar a disponibilidade de nutrientes e expandir a superfície radicular das plantas. Em situações em que essas bactérias auxiliam no controle de organismos nocivos, elas são geralmente referidas como agentes de controle biológico ou biopesticidas (Somers et al., 2004).

Em particular, as BPCPs endofíticas demonstram um potencial significativo para uso prático. Um exemplo é a *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5, que é reconhecida pela sua capacidade de tolerar altas concentrações de oxigênio e por desempenhar um papel essencial na fixação biológica de nitrogênio (FBN). Essa bactéria também está envolvida em outros processos vitais, como o metabolismo de carboidratos, a produção de gluconacina e a biossíntese de auxinas, reforçando seu impacto benéfico sobre o crescimento e a saúde das plantas (Silva et al., 2020).

A celulase, uma enzima precursora relacionada à Endo-1,4-beta-glucanase, é crucial para a bactéria *G. diazotrophicus* PAL 5, onde desempenha um importante papel na decomposição da celulose e na modulação das interações planta-microrganismo, como evidenciado por Rodrigues et al. (2016). As celulases, que são produzidas por uma vasta gama de microrganismos, incluindo bactérias e fungos, são fundamentais na degradação da celulose, um polímero prevalente em resíduos vegetais. Estudos de pesquisadores como Sang-Mok e Koo (2001) e Kirk et al. (2002) destacam que essas enzimas são induzíveis, com sua produção aumentada em resposta à presença de celulose. Esta característica é particularmente vantajosa em ambientes ricos em celulose, permitindo que bactérias produtoras de celulase, como *Cellulomonas*, *Cellulovibrio*, *Pseudomonas* e *Bacillus*, sobrevivam e também prosperem ao transformar celulose em açúcares simples. Além disso, a capacidade dessas bactérias de crescer rapidamente e resistir a condições ambientais extremas, conforme apontado por Lynd et al. (2002) e Odeniyi et al. (2009), as torna candidatas ideais para aplicações biotecnológicas, incluindo a produção de bioetanol e a gestão de resíduos. As celulases, além de facilitarem a reciclagem de biomassa, potencializam inovações tecnológicas que beneficiam tanto o meio ambiente quanto a economia (Mohammed, 2020).

No contexto agrícola, como no estudo de Rodrigues et al. (2016) focado em cana-de-açúcar, observou-se que 30% dos isolados bacterianos de *G. diazotrophicus* PAL 5 produziram celulase, destacando a relevância dessa enzima. As celulases não apenas decompõem a matéria orgânica liberando nutrientes essenciais para as plantas, como também são cruciais para a penetração e colonização de tecidos vegetais por endófitos, facilitando uma interação simbiótica benéfica entre a planta e a bactéria. A produção de celulase pelas bactérias indica seu potencial biotecnológico tanto em biofertilização como agentes de biocontrole, protegendo as plantas contra patógenos e influenciando a estrutura e a disponibilidade de recursos no ambiente rizosférico.

A bioinformática desempenha um papel fundamental no avanço das pesquisas biotecnológicas, especialmente no estudo de enzimas como a Endo-1,4-beta-glucanase em organismos como *G. diazotrophicus* PAL 5. Este componente interdisciplinar combina ciência da computação, biologia molecular e estatística para analisar e interpretar dados biológicos, o que é crucial para entender a estrutura e a função das proteínas.

No contexto específico da Endo-1,4-beta-glucanase, a bioinformática pode ser usada para realizar análises estruturais detalhadas dessa enzima, permitindo aos cientistas visualizar sua conformação tridimensional e identificar sítios ativos essenciais para sua função catalítica. Essas informações são vitais para o desenho de inibidores ou modificadores que podem aumentar a eficácia da enzima, ou para a engenharia de variantes da enzima com propriedades melhoradas, como maior estabilidade térmica ou pH ótimo alterado.

Além disso, a bioinformática facilita a análise de sequências genéticas e proteicas de *G. diazotrophicus* PAL 5, permitindo a identificação de genes responsáveis pela codificação da Endo-1,4-beta-glucanase e outras proteínas relacionadas. Isso pode levar ao desenvolvimento de estratégias para a sobreexpressão ou superexpressão desses genes, otimizando a produção da enzima para aplicações industriais, como na produção de bioetanol a partir de biomassa celulósica (Libardi et al., 2017; Dadwal, et al., 2019).

A utilização da bioinformática na análise funcional também ajuda a elucidar o papel que a Endo-1,4-beta-glucanase desempenha nas interações planta-

microrganismo, contribuindo para uma melhor compreensão de como essa bactéria promove o crescimento vegetal. Por exemplo, análises de expressão gênica e redes de interação proteica podem revelar como as condições ambientais afetam a produção da enzima e sua atividade, fornecendo insights sobre como maximizar os benefícios agrônômicos de *G. diazotrophicus* PAL 5.

Levando em conta o que foi exposto anteriormente, fica evidente a importância de estudar a celulase no contexto de *G. diazotrophicus* PAL 5. Assim sendo, o objetivo principal deste trabalho é compreender a interação entre *G. diazotrophicus* PAL 5 e as plantas, com foco específico na Endo-1,4-beta-glucanase (celulase), explorando como essa interação influencia o crescimento e a produtividade vegetal, a fim de identificar eventuais aplicações agroeconômicas. Para isso, foi utilizada a bioinformática para análises funcionais da enzima e modelos tridimensionais da celulase. Essas abordagens bioinformáticas permitem examinar como a atividade da celulase pode modificar a disponibilidade de nutrientes no solo, melhorar a saúde das raízes e potencializar a resistência das plantas a estresses bióticos e abióticos. Este estudo visa elucidar os mecanismos moleculares pelos quais a celulase de *G. diazotrophicus* PAL 5 facilita uma simbiose eficaz, proporcionando perspectivas valiosas para o desenvolvimento de biotecnologias mais eficientes e sustentáveis.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP)

As bactérias promotoras de crescimento de plantas (BPCP) abrangem um grupo diversificado de espécies pertencentes a vários gêneros, incluindo organismos de vida livre, bactérias que estabelecem relações simbióticas e bactérias endofíticas que colonizam os tecidos internos das plantas (Glick, 2012). Essas bactérias desempenham um papel crucial no desenvolvimento das plantas por meio de mecanismos diretos e indiretos. Os mecanismos diretos incluem a síntese de fitohormônios, que impactam diretamente o crescimento vegetal, e a facilitação da absorção de nutrientes (Novo et al., 2018). Por outro lado, os mecanismos indiretos envolvem diversos processos biológicos que contribuem indiretamente para o controle de fitopatógenos, seja pela produção de compostos antagonistas ou pela indução de resistência sistêmica (Saraf et al., 2014).

Em relação às suas propriedades funcionais, as BPCV são conhecidas como: (1) Biofertilizantes (quando promovem o crescimento das plantas principalmente através do aumento da disponibilidade de nutrientes e do estímulo ao crescimento radicular, o que amplia a superfície de absorção radicular e melhora a capacidade da planta de acessar água e nutrientes do solo); (2) Fitoestimuladores (promovendo o crescimento e o desenvolvimento das plantas, principalmente através da produção ou imitação de hormônios vegetais naturais, como auxinas, citocininas e giberelinas); (3) Rizadorremediadores (agindo na quebra de moléculas de poluentes orgânicos e articulando a solubilização de metais) e (4) Biopesticidas (auxiliando no controle de doenças e patógenos de plantas através da associação de antibióticos e metabólitos antifúngicos) (Somers et al., 2004; Novo et al., 2018; Santos Dias & Santos, 2022; Oliveira, 2023).

As BPCV mais conhecidas abrangem membros do gênero *Azospirillum*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Paenibacillus*, *Gluconacetobacter* e *Arthrobacter* (Girio, et al., 2015; Santos Dias & Santos, 2022).

Algumas dessas bactérias são encontradas na superfície externa das raízes, enquanto outras penetram e colonizam os tecidos internos das plantas sem causar sintomas evidentes de doença. Essas últimas são conhecidas como bactérias endofíticas, estabelecendo uma relação simbiótica com a planta hospedeira, na qual ambas as partes podem se beneficiar (Galvão, 2012).

O uso das BPCV representa um caminho seguro e ecologicamente sustentável dentro dos sistemas de produção agrícola, contribuindo significativamente para a sustentabilidade dos agroecossistemas. A adoção dessas bactérias tem crescido consideravelmente nos últimos anos, devido à sua versatilidade e aos múltiplos benefícios que oferecem. Entre as principais aplicações, destacam-se a mitigação dos efeitos de estresse causados por déficit hídrico e salinidade, o controle hormonal que favorece o crescimento vegetal, a fitoextração de metais pesados, e o biocontrole de fitopatógenos (Santos Dias; Santos, 2022). Essas capacidades demonstram o potencial das BPCV para melhorar a resiliência das culturas agrícolas a condições adversas e para promover práticas de cultivo mais sustentáveis e menos dependentes de insumos químicos sintéticos.

Adicionalmente, as BPCV possuem uma variedade de mecanismos de ação que contribuem significativamente para o crescimento e a saúde das plantas. Entre esses mecanismos, destacam-se a fixação de nitrogênio, que converte o nitrogênio atmosférico em uma forma utilizável pelas plantas; a solubilização de nutrientes, que torna os nutrientes do solo mais acessíveis às raízes; a liberação de fitohormônios que estimulam o crescimento vegetal; e a produção de compostos antimicrobianos, que protegem as plantas contra patógenos (Santos Dias; Santos, 2022). Esses mecanismos demonstram o papel vital das BPCV na promoção de um desenvolvimento vegetal robusto e na sustentação de ecossistemas agrícolas mais saudáveis.

2.2 Aspectos gerais da Interação bactéria-planta

Muitas bactérias têm a capacidade de colonizar as raízes das plantas, onde se multiplicam e ocupam diversos nichos. Esta colonização envolve a formação de comunidades que interagem de maneira simbiótica com a planta hospedeira. A interação planta-bactéria pode manifestar-se de várias formas, podendo ter, em alguns casos, uma presença bacteriana neutra, não exercendo influência significativa no crescimento vegetal, e, em um outro cenário, algumas bactérias podem causar um impacto negativo no desenvolvimento das plantas, sendo classificadas como patogênicas ou deletérias.

No entanto, existem bactérias que promovem o crescimento vegetal, exercendo um efeito benéfico na saúde e no desenvolvimento das plantas, conhecidas como bactérias promotoras de crescimento de plantas (Galvão, 2012). Essa interação inicia no microsistema da rizosfera, à medida que a planta se desenvolve, gerando o fenômeno conhecido como rizodeposição (liberação de exsudatos radiculares). O tipo e a composição de rizodepósitos conseguem atrair microrganismos benéficos e repelir outros que podem ser prejudiciais (Venturi; Keel, 2016; Novo et al., 2018).

Ademais, a rizosfera é a região do solo mais repleta de bactérias do que todas as outras e as regiões ao redor das raízes contemplam fungos, bactérias, protozoários e leveduras. Em camadas superficiais do solo, as concentrações de bactérias podem atingir até 10^9 células por grama, representando uma área de intensa atividade biológica e química. Esta atividade é fortemente influenciada por

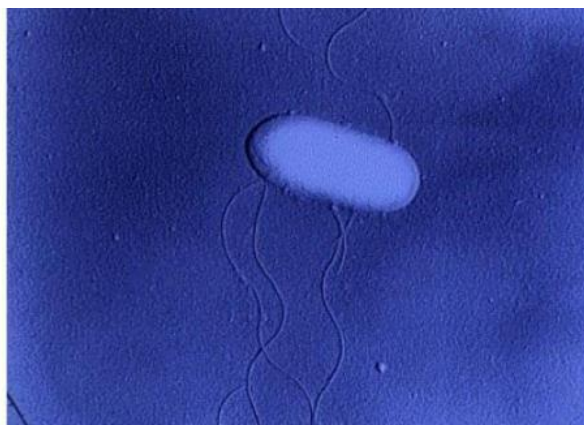
compostos exsudados pelas raízes das plantas. Esses microrganismos podem contribuir na potencialização de sua utilização na agricultura e na indústria, podendo ser usados como condutores na introdução de genes de interesse em plantas, inibidores de patógenos e fontes de metabólitos primários e secundários de interesse (Liu et al., 2017; Firdous et al., 2019).

2.3 *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5

Como exemplo de Bactérias Promotoras de Crescimento de Plantas (BPCP), a *Gluconacetobacter diazotrophicus* destaca-se significativamente. Este microrganismo faz parte do grupo das bactérias do ácido acético (AAB), sendo classificado como Gram-negativo, estritamente aeróbio e podendo ser agrupado em 10 gêneros, com os principais sendo *Acetobacter*, *Gluconobacter* e *Gluconacetobacter* (Prust et al., 2005; Azuma et al., 2009; Bertalan et al., 2009). Além disso, estas bactérias possuem a capacidade de oxidar uma ampla gama de açúcares, álcoois de açúcar e ácidos de açúcar, acumulando grandes quantidades de produtos oxidados similares em meio de cultura (Prust et al., 2005).

G. diazotrophicus é uma bactéria Gram-negativa, endofítica e diazotrófica, inicialmente isolada de raízes e colmos de espécies de cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*) no Brasil (Cavalcante e Döbereiner, 1988). Subsequentemente, esta bactéria também foi identificada em associação com outras culturas, incluindo batata-doce (*Ipomoea batatas*), abacaxi (*Ananas comosus*), arroz (*Oryza sativa*), e café (*Coffea arabica*) (Baldani & Baldani, 2005; Muthukumarasamy et al., 2007). Taxonomicamente, pertence ao filo Pseudomonadota (anteriormente conhecido como Proteobacteria), na classe Alphaproteobacteria, ordem Rhodospirillales e família Acetobacteraceae (Schoch et al., 2020). Adicionalmente, foi observada em insetos que infestam a cana-de-açúcar e em esporos de fungos em condições de repouso (Muthukumarasamy et al., 2002).

Figura 1- *Gluconacetobacter diazotrophicus*. Bactéria aeróbia e endofítica, com formato de bacilos.



Fonte: Santos, 2007

G. diazotrophicus é um aeróbio obrigatório, cujas células medem aproximadamente 0,7 a 0,9 μm por 2 μm e podem ser visualizadas pelo microscópio. As células podem aparecer isoladas, unidas ou em cadeias, apresentando diferentes configurações. Essas células possuem de um a três flagelos laterais ou peritríquicos que auxiliam na mobilidade. Além disso, *G. diazotrophicus* é uma bactéria que pode

crescer em altas concentrações de sacarose, suportando até 10% de sacarose em seu meio de cultivo. É também tolerante a ambientes ácidos, com capacidade de se desenvolver em condições de pH abaixo de 3,0. Adicionalmente, essa bactéria possui a habilidade de fixar nitrogênio em condições microaerofílicas, o que a torna particularmente valiosa em contextos agrícolas (Cavalcante e Döbereiner, 1988; Gillis et al., 1989). O pH ideal para seu crescimento é de 5,5, apesar dos valores de pH e da taxa de respiração variarem de acordo com as fontes de carbono utilizadas (Stephan et al., 1991).

A realização de pesquisas envolvendo a bactéria *G. diazotrophicus* é de grande importância, conforme evidenciado pelo estudo de Filgueiras (2015). Este trabalho atestou os efeitos positivos da inoculação de *G. diazotrophicus* no crescimento de plantas de arroz vermelho e na indução de uma resposta de tolerância sistêmica (IST) à seca. Adicionalmente, Silva et al. (2020) destacaram que a inoculação bacteriana não apenas melhorou a resistência à seca das plantas, como também influenciou positivamente a expressão de genes relacionados ao desenvolvimento radicular em condições de escassez hídrica. Com base nestes estudos, concluiu-se que a inoculação da cepa *G. diazotrophicus* PAL 5 estimula diversos mecanismos de crescimento e desenvolvimento das raízes, contribuindo para a resistência ao estresse hídrico em plantas. Esta intervenção bacteriana contribui para o desenvolvimento e aprimoramento da composição bioquímica das plantas, demonstrando um potencial significativo para o avanço da agricultura em condições adversas.

Portanto, a *G. diazotrophicus* PAL 5 cumpre uma função necessária e valiosa na agricultura e na natureza. Por ser uma bactéria diazotrófica, possui uma capacidade significativa de fixar o nitrogênio atmosférico, que é essencial para o crescimento das plantas. Os benefícios de *G. diazotrophicus* incluem a redução da dependência de fertilizantes nitrogenados sintéticos, o que atenua a poluição ambiental e diminui os custos associados à agricultura tradicional. Além disso, esta bactéria promove a adoção de práticas agrícolas mais ecologicamente equilibradas, contribuindo para o bem-estar da humanidade e a preservação dos recursos naturais para futuras gerações (Wanderley et al., 2019).

2.4 Celulase

As enzimas são proteínas conhecidas como catalisadores biológicos altamente potentes e eficazes. Quando comparadas com catalisadores químicos, uma das características que se destaca das enzimas é a especificidade pelo substrato e a especificidade em promover apenas uma reação bioquímica com seu substrato. Como catalisadores, as enzimas operam em pequena quantidade e conseguem ser recuperadas, conforme as condições de tratamento utilizados (Santos, 2007).

A tecnologia enzimática atualmente é um dos campos mais promissores no cenário das novas tecnologias para a síntese de compostos de grande valor agregado. Os processos de biocatalisadores industriais apresentam menor impacto ambiental e consumo energético, dado que as enzimas são biodegradáveis e, por serem altamente específicas, minimizam os efeitos indesejáveis (Rocha, 2010). Dentre as enzimas de importância industrial, as fitases, amilases, celulases, inulinasas, galactosidasas, proteases, lipases e lacases representam insumos intermediários importantes nas indústrias químicas, alimentícias, têxteis, entre outras (Singhania et al., 2007; Ramachandran et al., 2004; Ramachandran et al., 2005;

Rodríguez-Couto et al., 2004). O foco deste texto será especificamente nas celulases, explorando seu papel e aplicações.

Celulases são classificadas em três principais grupos com base em seu local de atuação no substrato celulósico: a) Endoglucanases (EGases ou EnG), que clivam ligações internas das fibras celulósicas; b) Exoglucanases (ExGases ou ExG), que atuam na região externa da celulose; e c) β -glicosidases (β Gases ou β G), que hidrolisam oligossacarídeos solúveis até glicose (Lynd et al., 2002). Quando essas enzimas são combinadas em um complexo celulásico, apresentam um rendimento superior ao que seria obtido com a atuação de cada uma de forma isolada. Este fenômeno é conhecido como efeito sinérgico, o qual contribui significativamente para a eficiência do processo de degradação da celulose (Arantes et al., 2010).

As celulases são enzimas especializadas na hidrólise de ligações específicas presentes na celulose, resultando na produção de celobiose, oligossacarídeos e glicose. Estas enzimas são frequentemente isoladas de uma variedade de microrganismos, incluindo fungos, bactérias e actinomicetos, além de possuírem uma ampla gama de aplicações industriais (Phukan et al., 2011; Patel et al., 2019; Rajnish et al., 2021). Elas são utilizadas na fabricação de papel, detergentes, na indústria têxtil e alimentícia, além de desempenharem um papel crucial na produção de biocombustíveis (Phukan et al., 2011; Dadwal et al., 2021; Rajnish et al., 2021).

No entanto, a eficácia das celulases enfrenta desafios significativos, principalmente devido à sua dificuldade em penetrar a barreira de lignina nas células vegetais. Esta barreira impede que as enzimas acessem as fibras de celulose de forma eficiente, representando o principal obstáculo no processo de degradação da celulose (Thiemann et al., 1980). A diversidade de microrganismos produtores de celulases na natureza é vasta, mas apenas alguns são verdadeiramente celulolíticos, capazes de degradar celulose natural. Em condições laboratoriais, substratos como algodão e papel de filtro são frequentemente utilizados para induzir a produção de exo-glicosidases e avaliar a atividade do complexo celulolítico (Ruegger et al., 2004).

Nesse contexto, é importante entender a diversidade funcional dessas enzimas para superar essas barreiras. As endoglucanases, por exemplo, têm sítios ativos abertos que permitem a ligação em qualquer parte da molécula de celulose, hidrolisando as ligações β -1,4 e 1,3, o que facilita a quebra inicial da estrutura da celulose, proporcionando pontos de acesso para outras enzimas celulolíticas. As endoglucanases são notáveis por sua ampla variedade de dobramentos proteicos, o que sugere uma diversidade evolutiva considerável entre essas enzimas (Sukharnikov et al., 2011).

Por outro lado, as exoglucanases possuem sítios ativos mais restritivos, semelhantes a túneis, que se ligam às extremidades das cadeias de celulose, processando a hidrólise em oligossacarídeos de comprimento específico. Estas enzimas são geralmente processivas, ou seja, permanecem ligadas à cadeia de celulose até que ela seja completamente hidrolisada, diferentemente das endoglucanases, que podem ser tanto processivas quanto não processivas (Sukharnikov et al., 2011; Dadwal et al., 2021). A sinergia entre endoglucanases e exoglucanases é crucial, pois facilita a quebra eficiente da celulose em oligossacarídeos e celobiose, preparando o estágio para a ação final das β -glicosidases, que hidrolisam esses intermediários em glicose (Patel et al., 2019; Dadwal et al., 2021). Este processo integrado e cooperativo maximiza a eficiência da degradação da celulose, essencial para aplicações industriais e biotecnológicas.

As endoglucanases desempenham um papel importante na decomposição de matéria orgânica. Além disso, elas facilitam a preparação de resíduos agrícolas para compostagem e outros processos de reciclagem, conforme evidenciado por Zhang et al. (2020). Este estudo destacou que quatro cepas bacterianas celulolíticas isoladas dos sedimentos do Lago Donghu, na China, exibiram atividades significativas de endoglucanase. Destaca-se a cepa WDHS-02 que alcançou uma alta taxa de degradação em um meio contendo *Hydrilla verticillata*, uma planta aquática submersa, demonstrando a eficácia das endoglucanases na conversão de celulose em açúcares redutores sem pré-tratamento ácido-base (Zhang et al., 2020). Essas descobertas ressaltam a capacidade dessas bactérias de contribuir para a gestão de biomassa excessiva em ecossistemas aquáticos e de ampliar o conjunto de microrganismos capazes de degradar plantas submersas. Em sistemas de cultivo que aplicam técnicas como rotação de culturas e cobertura do solo com resíduos de plantas, as endoglucanases podem acelerar a decomposição da matéria vegetal, melhorando a disponibilidade de nutrientes essenciais e a fertilidade do solo (Shinde et al., 2022). Este processo é essencial para o crescimento saudável das plantas. Além disso, a aplicação de microrganismos produtores de endoglucanase, conforme explorado por Biswas et al. (2020), pode ser extremamente benéfica em práticas agrícolas sustentáveis. As cepas isoladas das florestas de mangue de Sundarbans, como *Bacillus sp. T2-D2* e *Pseudomonas sp. E1-PT*, mostraram atividades significativas de endoglucanase, indicando potenciais aplicações industriais, incluindo a produção de bioetanol e o manejo de resíduos agrícolas.

A importância da produção de celulase, particularmente endoglucanase, é destacada por Bhati, Shreya e Sharma (2021), que ressaltam como avanços tecnológicos como aprimoramento de cepas e bioprocessamento consolidado podem melhorar significativamente a eficiência e custo-efetividade na produção dessas enzimas. Isso aponta para a vasta aplicabilidade das endoglucanases nas indústrias de alimentos e bebidas, além da indústria de papel e celulose, reforçando a necessidade de contínuo desenvolvimento e inovação na área de enzimas celulolíticas.

Considerando a relevância da celulose nas aplicações agroindustriais, é crucial estudar a celulase da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5. A aplicação de técnicas de bioinformática para entender melhor esta enzima pode desbloquear novas possibilidades biotecnológicas, que têm o potencial de transformar significativamente a biotecnologia agrícola. A compreensão detalhada da estrutura e função dessa celulase permitirá a otimização de sua eficácia em processos industriais, assim como o desenvolvimento de estratégias mais eficientes e sustentáveis para o manejo de resíduos agrícolas e a produção de bioenergia. Esses avanços podem levar a melhorias substanciais na sustentabilidade e produtividade agrícolas, sublinhando a importância de investimentos continuados em pesquisa e desenvolvimento nesta área.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral: Esclarecer o papel da enzima Putative endoglucanase precursor de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5 relacionada à interação com as plantas através da bioinformática com ênfase nas implicações dessas interações no desenvolvimento e produtividade vegetal a fim de identificar eventuais aplicações agroeconômicas.

3.2 Objetivos específicos:

1. Realização da análise funcional identificando domínios conservados e sítios de modificações pós-traducionais na Putative endoglucanase precursor, utilizando os programas Prosite e CD-Search.
2. Execução da modelagem tridimensional da proteína utilizando a metodologia de modelagem por homologia através da plataforma Swiss-Model.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Análise funcional da celulase

Para realizar a análise funcional da proteína Putative Endoglucanase Precursor (Endo-1,4-beta-glucanase, conhecida como celulase) de *G. diazotrophicus* PAL5, utilizou-se a sequência FASTA fornecida pelo NCBI (National Center for Biotechnology Information (nih.gov)) com o código de acesso no GenBank CAP56480. Para complementar essa análise, foram analisados os domínios conservados da celulase através do banco de dados ProSite (<https://prosite.expasy.org/>) e a ferramenta do ScanProsite (<http://prosite.expasy.org/scanprosite/>).

4.2 Identificação da sequência e similaridade entre as espécies

Para identificar sequências homólogas à celulase de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5, foi utilizada a ferramenta BLAST, disponível no NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). A seleção das sequências foi baseada em um critério de identidade de sequência de 70% ou superior. Espécies que atendiam ou excediam esse limiar de identidade foram escolhidas para análise posterior, garantindo que as sequências selecionadas compartilhassem uma alta similaridade com a celulase de referência, o que sugere relevância funcional e evolutiva.

4.3 Construção do modelo tridimensional

O modelo tridimensional da proteína celulase (Endo-1,4-beta-glucanase) foi realizado através da plataforma SWISS-MODEL (<https://swissmodel.expasy.org/interactive>). Quanto à metodologia empregada, utilizou-se a modelagem por homologia, selecionando o seguinte modelo 3D: A0A149UVI5.1 para celulase. Após a geração do modelo inicial, este foi refinado utilizando a ferramenta ModRefiner (<https://zhanggroup.org/ModRefiner/>).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análise Funcional da celulase

A análise funcional de enzimas como a putative endoglucanase precursor (Endo-1,4-beta-glucanase, conhecida como celulase) em *G. diazotrophicus* PAL 5 é essencial para compreender a sua contribuição nos processos biológicos essenciais, especialmente na degradação da celulose. Esta compreensão é enriquecida pela comparação de sequências de celulase e suas modificações pós-traducionais em

diversas espécies dos gêneros *Gluconacetobacter* e *Nguyenibacter*, conforme apresentado na Tabela 1. As modificações observadas incluem N-miristoilação, fosforilações por proteína quinase C, caseína quinase II e tirosina quinase, além de N-glicosilação. A N-miristoilação, frequentemente localizada no início das sequências de aminoácidos, auxilia na ancoragem de proteínas nas membranas celulares ou em compartimentos intracelulares (Resh, 1999), além de ser comum na maioria das espécies analisadas, sugerindo uma função essencial relacionada à localização da celulase dentro das células ou à sua interação com as membranas.

As fosforilações, que ocorrem em diversos sítios, podem influenciar a atividade, a estabilidade e as interações enzimáticas com outros componentes celulares, afetando diretamente a eficácia da degradação da celulose. A tirosina quinase, por exemplo, pode ser encontrada em bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, e estão envolvidas em diversas funções celulares e processos de sinalização (Grangeasse et al., 2012; Cuthbertson, 2009). Evidencia-se que a fosforilação por tirosina quinase é encontrada especificamente em *Nguyenibacter vanlangensis* e *Nguyenibacter sp. L1*, indicando adaptações evolutivas que podem proporcionar vantagens regulatórias ou funcionais específicas a essas espécies.

A N-glicosilação, embora menos prevalente, pode impactar o dobramento, a estabilidade e a atividade da enzima. A raridade desta modificação nas sequências sugere adaptações específicas das celulases em certas espécies que podem operar eficientemente sem essa modificação. Importante ressaltar que a celulase de *G. diazotrophicus* não apresenta N-glicosilação nem fosforilação por tirosina quinase. A ausência de N-glicosilação pode refletir uma estabilidade intrínseca da proteína ou adaptações ao ambiente celular que dispensam a necessidade dessa modificação. Já a falta de fosforilação por tirosina quinase sugere que a regulação da atividade enzimática desta celulase pode depender de mecanismos alternativos ou que a enzima funcione de maneira constitutiva, sem a necessidade de regulação detalhada por fosforilação. Estas características podem oferecer vantagens na produção industrial, onde processos mais simples e menos suscetíveis a variações de condições são preferíveis.

Tabela 1. Modificações pós-traducionais das sequências de celulase em espécies de bactérias. As sequências de letras representam segmentos específicos de aminoácidos em uma proteína, onde cada letra corresponde a uma abreviação padrão de um aminoácido. Os números associados a cada sequência representam a localização dos segmentos dentro da cadeia de aminoácidos da proteína, denotando as posições exatas onde ocorrem as modificações. As abreviações como SNK, SaR, e SgR especificam os pontos exatos de fosforilação e outras modificações críticas.

Nome da Sequência	Nome da Espécie	N-miristoilação	Fosforilação da Proteína Quinase C	Fosforilação da Caseína Quinase II	N-glicosilação	Fosforilação de tirosina quinase
WP_01255 3340.1	<i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i>	20 - 25: GAmpAR	41 - 43: SNK	131 - 134: TaaD	-	-
		31 - 36: GVnlAG	211 - 213: TIK	211 - 214: TIkD		
		36 - 41: GAaySS	232 - 234: SgR	317 - 320: TgqD		

		122 - 127: GTliGD	332 - 334: ThR			
		128 - 133: GQvtAA				
		178 - 183: GlrAG				
		268 - 273: GVgrSA				
WP_18296 8868.1	<i>Gluconacetobacter tumulicola</i>	30 - 35: GVnlAG	40 - 42: SnR	130 - 133: SadD	288 -291: NQSV	-
		35 - 40: GAaySS	163 - 165: Sar	144 - 147: TlhD		
		121 - 126: GNliGG	231 - 233: SgR			
		177 - 182: GlrSAG				
		267 - 272: GVgrNA				
MBB21723 82.1	<i>Gluconacetobacter asukensis</i>	20 - 25: GVnlAG	30 - 32: SNK	120 - 123: SadD	-	-
		25 - 30: GAaySS	153 - 155: SaR	134 - 137: TlhD		
		167 - 172: GlrSAG	221 - 223: SgR	278 - 281: NQSV		
		257 - 262: GVgrNA				
WP_24637 5901.1	<i>Gluconacetobacter takamatsuzukensis</i>	30 - 35: GVnlAG	40 - 42: SNK	130 - 133: SadD	288 -291: NRSV	-
		35 - 40: GAaySS	163 - 165: SaR			
		121 - 126: GNliGS	231 - 233: SgR			
		177 - 182: GlrSAG				
		267 - 272: GVgrNA				
WP_24628 5573.1	<i>Nguyenibacter vanlangensis</i>	44 - 49: GVnlAG	36 - 38: Sar	99 - 102: TplD	302 -305: NRSV	98 - 105: RtplDaaY
		49 - 54: GAaySS	54 - 56: SNK	144 - 147: SaaD		
		135-140:	245 - 247:	177 - 180:		

		GTliGG	SgR	SaqD		
		191 - 196: GArqAG	351 - 353: TiR	263 - 266: SftD		
		281-286: GVgrND		330 - 333: TgqD		
		347-352: GQdrTI		338 - 341: TvID		
WP_18294 1418.1	<i>Gluconacetobacter johanna</i>	30 - 35: GVnlAG	40 - 42: SNK	130 - 133: TsaD	315-318: NGTD	-
		35 - 40: GAaySS	231 - 233: SgR	210 - 213: SlqD		
		121 - 126: GVpiGT	317 - 319: TdR			
		146 - 151: GGspGV				
		150 - 155: GVmfGL				
		177 - 182: GlrqAG				
		267 - 272: GVgrND				
		282 - 287: GSylAA				

Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

A celulase de *G. diazotrophicus* PAL 5 foi analisada em comparação com celulases de outras espécies bacterianas do domínio Bacteria. A Tabela 2 mostra o percentual de identidade entre a celulase de *G. diazotrophicus* e celulases de diversas outras espécies bacterianas. Este comparativo é essencial para elucidar tanto o grau de conservação quanto as variações desta enzima entre espécies do mesmo gênero e gêneros afins, fornecendo insights sobre suas adaptações evolutivas e potenciais funcionalidades.

Tabela 2 - Análise do percentual de identidade da celulase de bactérias em relação a celulase de *G. diazotrophicus*

Espécie	Nome (NCBI)	Percentual de Identidade referente a celulase de <i>G. diazotrophicus</i>
<i>Gluconacetobacter tumulicola</i>	WP_182968868.1	78%
<i>Gluconacetobacter asukensis</i>	MBB2172382.1	78%

<i>Gluconacetobacter takamatsuzukensis</i>	WP_246375901.1	76%
<i>Nguyenibacter vanlangensis</i>	WP_246285573.1	77%
<i>Nguyenibacter sp. L1</i>	WP_323991542.1	75%
<i>Gluconacetobacter johannae</i>	WP_182941418.1	70%

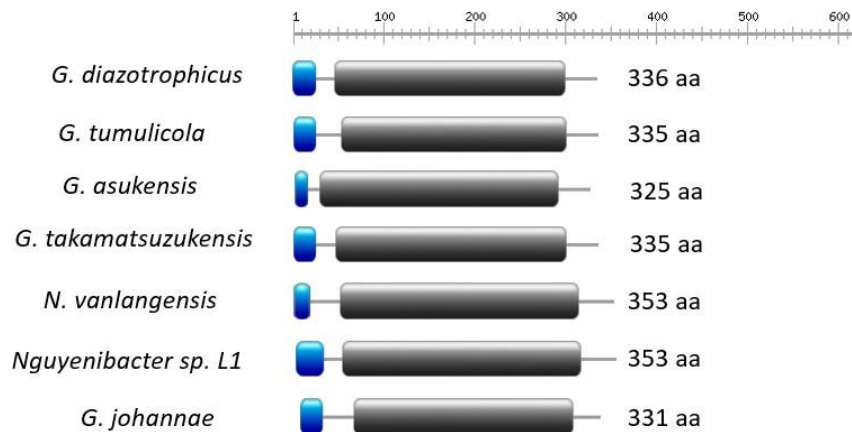
Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

As sequências listadas pertencem principalmente ao gênero *Gluconacetobacter*, com percentuais de identidade variando de 70% a 78%, indicando uma alta conservação da enzima dentro deste gênero. As espécies *Gluconacetobacter tumulicola* e *Gluconacetobacter asukensis* mostram o maior percentual de identidade (78%), sugerindo uma proximidade evolutiva maior com *G. diazotrophicus* em termos da estrutura da celulase.

Espécies do gênero *Nguyenibacter* exibem percentuais de identidade de 75% a 77%, o que também indica uma considerável conservação da celulase, embora um pouco menos comparado às espécies de *Gluconacetobacter*. Isto pode refletir divergências evolutivas que ainda preservam a função enzimática essencial.

Aprofundando a análise referente às sequências aqui estudadas, a Figura 2 apresentada destaca os domínios conservados e os peptídeos de sinal das proteínas celulasas em diversas espécies bacterianas. Os peptídeos de sinal, indicados em azul, estão localizados no início de cada sequência. Esta característica é comum em proteínas que são secretadas, sugerindo que as celulasas são encaminhadas para fora da célula bacteriana ou para compartimentos celulares específicos. A uniformidade na presença do peptídeo de sinal em todas as espécies examinadas sublinha a importância desse segmento para o direcionamento adequado e a funcionalidade da enzima no ambiente extracelular.

Figura 2 - Domínios conservados das proteínas celulasas pertencentes a espécies de bactérias. Domínio conservado da celulase está sinalizado na cor cinza. A cor azul está indicando onde ocorre o peptídeo de sinal.



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

Segue-se a essa região inicial, os domínios conservados da celulase, que são representados em cinza. A presença desses domínios em posições subsequentes

aos peptídeos de sinal ressalta sua função crucial na atividade catalítica da enzima, que inclui a ligação à celulose e sua subsequente hidrólise. A conservação destes domínios entre as diferentes espécies destaca a importância evolutiva e funcional dessas regiões na biologia das celulasas.

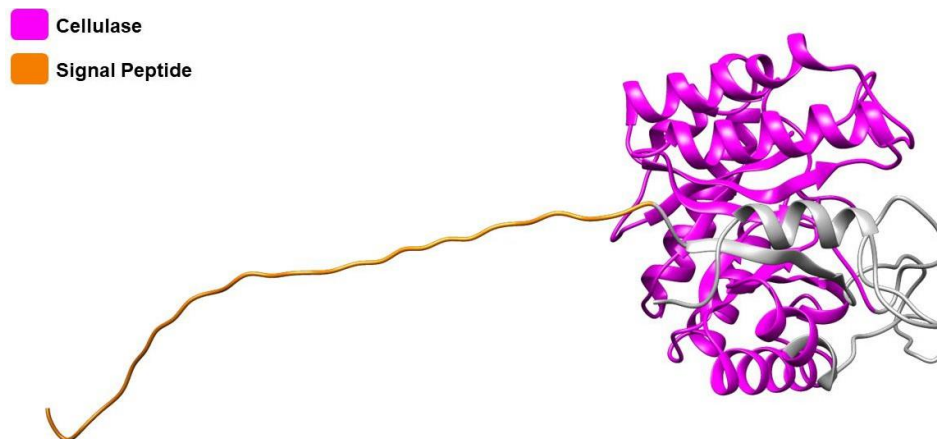
Além disso, o tamanho das proteínas celulasas varia entre 325 e 353 aminoácidos. Essa variação de tamanho pode ser explicada pelas diferenças nas regiões não-conservadas, que possivelmente afetam a regulação da atividade enzimática e as interações com outros componentes proteicos.

5.2 Análise do modelo tridimensional da celulase

A análise funcional da celulase em *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5 foi aprofundada com a construção de um modelo tridimensional para a proteína precursora de endoglucanase relacionada à Endo-1,4-beta-glucanase (celulase), conforme ilustrado na Figura 3. No modelo, o domínio conservado da celulase, pertencente à família 5 de glicosil hidrolases (GH5) sendo importante para a atividade enzimática, é destacado em rosa. As enzimas GH5 são especializadas na quebra de ligações β -1,4-glicosídicas encontradas na celulose e outros polissacarídeos, desempenhando um papel vital no ciclo do carbono e na conversão de biomassa (Aspeborg et al., 2012). A presença desse domínio em uma diversidade de organismos, incluindo bactérias, fungos e protozoários, ilustra a importância evolutiva dessa capacidade adaptativa para utilizar celulose como fonte de carbono em diferentes ambientes ecológicos (Aspeborg et al., 2012; Neis; Silva, 2021).

Ademais, a celulase analisada também apresenta um peptídeo sinal, sinalizado em laranja na Figura 3. A presença desse peptídeo de sinal e de uma região subsequente, como uma hélice transmembrana, propõe que a celulase pode, além de ser secretada, estar associada à membrana, ancorada por essa região transmembrana corroborando com os resultados funcionais da seção anterior. Tendo em vista que a celulose é um componente estrutural/organizacional das paredes celulares das plantas e está disponível exclusivamente no ambiente externo, a localização extracelular da celulase de *G. diazotrophicus* possibilita um contato direto e eficiente com as paredes celulares, ajudando na degradação da celulose. Dessa forma, essa característica pode estar relacionada ao papel da bactéria na simbiose com plantas, em que a degradação da celulose pode ser um fator crucial.

Figura 3- Modelo tridimensional da proteína precursora de endoglucanase de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5, relacionada à Endo-1,4-beta-glucanase.



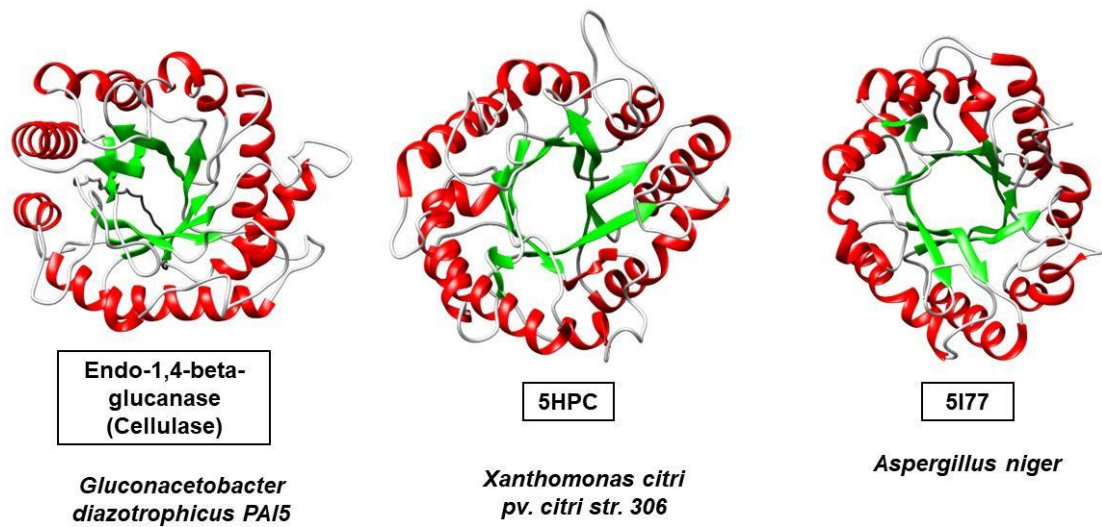
Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

O domínio conservado de celulase da família 5 de glicosil hidrolases (GH5), destacado em rosa, é primordial para a hidrólise de ligações β -1,4-glicosídicas na celulose. O peptídeo sinal, destacado em laranja, propõe que a celulase pode estar associada à membrana ou ser secretada, facilitando sua interação com as paredes celulares das plantas no ambiente externo.

O modelo de celulase de *G. diazotrophicus* PAL 5 foi comparado com outras estruturas no banco de dados PDB, revelando uma conservação evidente da estrutura secundária, como demonstrado na Figura 4. O PDB 5HPC, que pertence a uma celulase de *Xanthomonas citri* pv. citri str. 306, compartilha 42% de identidade e 54% de positivos com a celulase de *G. diazotrophicus*. *Xanthomonas citri* é conhecida por causar cancro cítrico, sendo amplamente estudada devido ao seu impacto significativo em várias espécies de cítricos (Martins et al., 2020). Embora a função primária da celulase seja a degradação da celulose, em contextos fitopatogênicos, a enzima facilita a penetração do patógeno nos tecidos da planta, quebrando as paredes celulares e promovendo a disseminação da bactéria dentro do hospedeiro (Picard et al., 2000).

Por outro lado, o PDB 5I77 representa uma celulase de *Aspergillus niger*, compartilhando 34% de identidade e 52% de positivos com a celulase de *G. diazotrophicus*. *A. niger*, um fungo saprófito conhecido pela produção de esporos pretos, utiliza a endo-beta-1,4-glucanase para degradar matéria vegetal morta, um processo essencial para a reciclagem de nutrientes nos ecossistemas (Andersen et al., 2012).

Figura 4- Comparação das estruturas tridimensionais de celulases de diferentes organismos.



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

À esquerda, a estrutura da celulase de *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5 é mostrada, destacando a conservação das hélices alfa (em vermelho) e folhas beta (em verde) características das glicosil hidrolases. No centro, a estrutura da celulase de *Xanthomonas citri* pv. *citri* str. 306 (PDB 5HPC). À direita, a celulase de *Aspergillus niger* (PDB 5177). A comparação destas estruturas ilustra a diversidade funcional das celulases, apesar de sua base estrutural conservada.

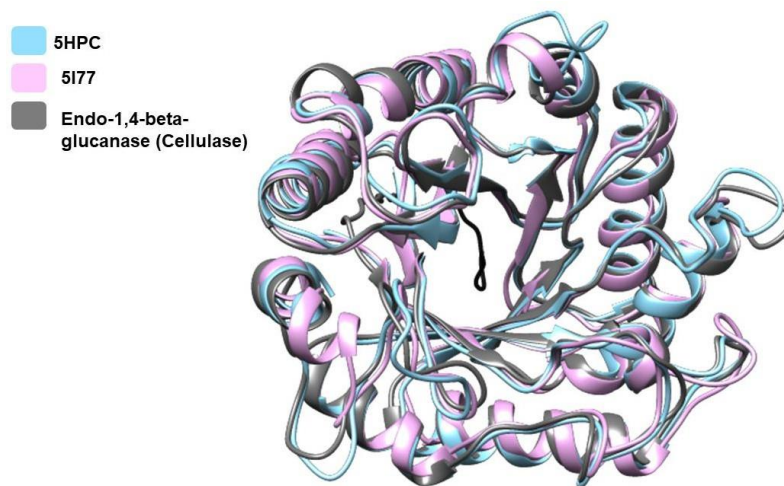
A presença de celulases em organismos tão distintos como *G. diazotrophicus*, *X. citri*, e *A. niger* sugere um caso de evolução convergente, onde a mesma função enzimática foi selecionada para atender a diferentes necessidades biológicas. Cada um desses organismos utiliza a celulase de maneira que otimiza suas interações e sobrevivência em seus ambientes específicos. Em *G. diazotrophicus*, a celulase pode desempenhar um papel na simbiose com plantas, auxiliando na interação com a planta hospedeira e facilitando a troca de nutrientes. Em *X. citri*, a celulase contribui para a patogenicidade, ajudando na invasão de tecidos vegetais durante infecções. Para *A. niger*, a celulase permite a decomposição de matéria vegetal morta, acessando fontes de carbono orgânico vitais para o crescimento e desenvolvimento do fungo. Portanto, embora a base enzimática seja compartilhada, a diversificação das funções das celulases ilustra como as pressões evolutivas e ecológicas moldam o uso das capacidades bioquímicas para beneficiar a adaptação dos organismos a seus nichos específicos.

A conservação entre a celulase analisada e as estruturas depositadas no PDB é evidenciada quando estas são sobrepostas, conforme mostrado na Figura 5. A sobreposição das estruturas de proteínas, que apresenta um valor de RMSD (Root Mean Square Deviation) de 0,789 Ångströms, revela uma congruência nas estruturas secundárias, incluindo hélices alfa e folhas beta. Esta similaridade tem implicações significativas tanto do ponto de vista da atividade enzimática quanto da evolução.

A precisão dessa sobreposição sugere que essas celulases compartilham um sítio ativo similar e uma geometria de substrato correspondente, ambos cruciais para a catalização eficiente das reações de quebra de celulose. A conservação estrutural frequentemente implica em conservação funcional, indicando que as enzimas possuem mecanismos de ação semelhantes e, possivelmente, eficiências catalíticas comparáveis. Tal conservação pode ser indicativa de seleção positiva, onde a

integridade do sítio ativo e a eficácia da catálise são mantidas. Isso sugere que as características funcionais, preservadas desde um ancestral comum, resultam em que mutações que melhoram ou mantêm a função catalítica da celulase foram favorecidas ao longo do tempo, enquanto mutações prejudiciais foram eliminadas pela seleção natural. Além disso, isso sublinha que a capacidade de degradar celulose é uma função antiga e essencial, preservada enquanto os organismos se diversificavam em diferentes nichos ecológicos.

Figura 5- Sobreposição tridimensional das estruturas de celulase de diferentes organismos.



Fonte: Elaborada pela autora, 2024.

As estruturas representadas incluem celulase de *Xanthomonas citri* (PDB 5HPC, em roxo) e celulase de *Aspergillus niger* (PDB 5I77, em azul), comparadas com a celulase de *Gluconacetobacter diazotrophicus* (em cinza escuro). A sobreposição revela um valor de RMSD de 0,789 Ångströms, indicando uma alta congruência nas estruturas secundárias, incluindo hélices alfa e folhas beta. Essa similaridade estrutural destaca a conservação funcional dessas enzimas ao longo da evolução e sublinha a importância dessas características na atividade catalítica das celulases.

6 CONCLUSÃO

Baseado nos dados obtidos, pode-se concluir que a putative endoglucanase precursor (Endo-1,4-beta-glucanase, conhecida como celulase) da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL 5, desempenha um papel fundamental na simbiose com plantas, auxiliando na interação com a planta hospedeira e facilitando a troca de nutrientes. No entanto, em outras espécies, a celulase apresentará ações distintas, como, por exemplo, contribuirá para a patogenicidade (auxiliando na invasão de tecidos vegetais durante infecções) e atuará na decomposição de matéria vegetal morta (acessando fontes de carbono orgânico vitais para o crescimento e desenvolvimento do fungo). Isso significa que, embora a base enzimática seja compartilhada, a diversificação das funções das celulases ilustra como as pressões evolutivas e ecológicas moldam o uso das capacidades bioquímicas para beneficiar a adaptação dos organismos a seus nichos específicos.

Ademais, ao elucidar os processos envolvidos nessa interação, é possível conduzir esforços para otimizar a agricultura, a fim de contribuir para a promoção do crescimento das plantas e aumentando sua resistência, gerando implicações importantes na segurança alimentar e na sustentabilidade agrícola.

No entanto, cumpre destacar que as análises realizadas fornecem uma visão preliminar e computacionalmente preditiva. Dessa forma, se faz necessário realizar estudos experimentais adicionais para validar e confirmar as interações e funções da celulase. A integração de abordagens experimentais e análises bioinformáticas aprofundará nosso entendimento da atuação dessa proteína na relação bactéria-planta e possibilitará uma base mais firme para aplicações práticas na agricultura.

REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, M. R., GIESE, M., de VRIES, R. P., & NIELSEN, J. (2012). Mapping the polysaccharide degradation potential of *Aspergillus niger*. **BMC genomics**, 13, 1-17.
- ARANTES, V.; SADLER, J.N. Access to cellulose limits the efficiency of enzymatic hydrolysis: the role of amorphogenesis. **Biotechnology for Biofuels**. 2010 Article in press.doi:10.1186/1754-6834-3-4.
- ASPEBORG, H., COUTINHO, P. M., WANG, Y., BRUMER, H., & HENRISSAT, B. (2012). Evolution, substrate specificity and subfamily classification of glycoside hydrolase family 5 (GH5). **BMC evolutionary biology**, 12, 1-16.
- BHATI, N.; SHREYA; SHARMA, A. K. Produção de celulase com custo-efetivo, estratégias de melhoria e desafios futuros. **Journal of Food Process Engineering**, v. 44, n. 2, e13623, 2021.
- BISWAS, S.; SABER, M.A.; TRIPTY, I.A. et al. Caracterização molecular de bactérias celulolíticas (endo- e exoglucanase) da maior floresta de mangue (Sundarbans), Bangladesh. **Annals of Microbiology**, v. 70, p. 68, 2020.
- BLOEMBERG GV, LUGTENBERG BJ. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. **Curr Opin Plant Biol**. 2001 Aug;4(4):343-50. doi: 10.1016/s1369-5266(00)00183-7. PMID: 11418345.
- BOISSON B, GIGLIONE C, MEINNEL T. Unexpected protein families including cell defense components feature in the N-myristoylome of a higher eukaryote. **J Biol Chem** 2003; 278:43418-29.
- CASTRO, P. R.; KLUGE, R. A. PERES, L. E. P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. 2005.
- CAULIER, S., NANNAN, C., GILLIS, A., LICCIARDI, F., BRAGARD, C., & MAHILLON, J. (2019). Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group. **Frontiers in microbiology**, 10, 435128.

CAULIER, S.; NANNAN, C.; GILLIS, A.; LICCIARDI, F.; BRAGARD, C.; MAHILLON, J. Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the *Bacillus subtilis* group. **Frontiers in Microbiology**, v. 10, 435128, 2019.

CAVALCANTE, V. A.; DÖBEREINER, J. A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugarcane. **Plant and Soil**, Rio de Janeiro, v. 108, n. 1, p. 23-31, 1988.

CUTHBERTSON L.; MAINPRIZE I.L.; NAISMITH J.H.; WHITFIELD C. Pivotal roles of the outer membrane polysaccharide export and polysaccharide copolymerase protein families in export of extracellular polysaccharides in gram-negative bacteria. **Microbiology Molecular Biology Reviews** v.73, p. 155-177, 2009.

DADWAL, A., SHARMA, S., & SATYANARAYANA, T. (2019). Diversity in cellulose-degrading microbes and their cellulases: role in ecosystem sustainability and potential applications. **Microbial Diversity in Ecosystem Sustainability and Biotechnological Applications: Volume 2**. Soil & Agroecosystems, 375-402.

DADWAL, ANICA; SHARMA, SHILPA; SATYANARAYANA, Tulasi. Thermostable cellulose saccharifying microbial enzymes: characteristics, recent advances and biotechnological applications. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [S.L.], v. 188, p. 226-244, out. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.024>.

DEMASON, D. A. Auxin-cytokinin and auxin-gibberellin interactions during morphogenesis of the compound leaves of pea (*Pisum sativum*). **Planta**, v. 222, p.151-166, 2005.

DEY, S., AWATA, T., MITSUSHITA, J., ZHANG, D., KASAI, T., MATSUURA, N., & KATAYAMA, A. (2021). Promotion of biological nitrogen fixation activity of an anaerobic consortium using humin as an extracellular electron mediator. **Scientific reports**, 11(1), 6567.

EINSLE, O., & REES, D. C. (2020). Structural Enzymology of Nitrogenase Enzymes. **Chemical Reviews**. doi:10.1021/acs.chemrev.0c00067

FILGUEIRAS, L. M. B. et al. Eficiência de *Gluconacetobacter diazotrophicus* no aumento da tolerância de arroz vermelho à deficiência hídrica durante a fase reprodutiva. 2015.

FIRDOUS, J. et al. Endophytic bacteria and their potential application in agriculture: a review. **Indian Journal of Agricultural Research**, v. 53, n. 1, p. 1-7, 2019.

FRANCO, A. A.; DÖBEREINER, J. A biologia do solo e a sustentabilidade dos solos tropicais. **Summa Phytopathologica**, Piracicaba, v. 20, n. 1, p. 68-74, 1994.

FATHALLA MOHAMMED, A. (2020). Optimization of cellulase and chitinase enzymes production by plant growth promoting rhizobacteria. **Novel Research in Microbiology Journal**, 4(1), 641-652.

GALVÃO, P. G. Análise proteômica de estirpes selvagem pa15t e mutante lao- de *gluconacetobacter diazotrophicus* na presença e ausência de triptofano e o efeito de sua inoculação em plantas micropropagadas de cana-de-açúcar. 2012. Tese (Doutorado) – Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, 2012.

GÍRIO, L. A. et al. Bactérias promotoras de crescimento e adubação nitrogenada no crescimento inicial de cana-de-açúcar proveniente de mudas pré-brotadas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, p. 33-43 2015.

GLICK, B. R. (2012). Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. **Scientifica**, 1-15. DOI: 10.6064/2012/963401.

GRANGEASSE, C., S. NESSLER, and I. MIJAKOVIC, Bacterial tyrosine kinases: evolution, biological function and structural insights. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci**, 2012. 367(1602): p. 2640-55.

HUNGRIA, M. Inoculação com *Azospirillum brasilense*: inovação em rendimento a baixo custo. 2011.

KIRK, O., BORCHERT, T. V., & FUGLSANG, C. C. (2002). Industrial enzyme applications. **Current opinion in biotechnology**, 13(4), 345-351.

KUMAR, A. et al. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): perspective in agriculture under biotic and abiotic stress. In: Crop improvement through microbial biotechnology. **Elsevier**, 2018. p. 333-342.

LIBARDI, N., SOCCOL, C. R., GÓES-NETO, A., de OLIVEIRA, J., & de SOUZA VANDENBERGHE, L. P. (2017). Domestic wastewater as substrate for cellulase production by *Trichoderma harzianum*. **Process biochemistry**, 57, 190-199.

LIU, H. et al. Inner plant values: diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2552, 2017.

LYND, L.R.; WEIMER, P.J.; VAN ZYL, W.H.; PRETORIUS, I.S. (2002) Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiology and molecular biology reviews*. **American Society for Microbiology**., n.3, v.66., p.506-577.

MALAVOLTA, E. Elementos de nutrição mineral de plantas. São Paulo: **Editora Agronômica Ceres**, 1980. 251 p.

MARIN, V. A. et al. Fixação biológica de nitrogênio: Bactérias fixadoras de nitrogênio de importância para a agricultura tropical. 1999.

MARTINS, P. M. M., de OLIVEIRA ANDRADE, M., BEBEDETTI, C. E., & de SOUZA, A. A. (2020). *Xanthomonas citri* subsp. *citri*: host interaction and control strategies. **Tropical plant pathology**, 45, 213-236.

MASSON-BOIVIN, C., & SACHS, J. L. (2018). Symbiotic nitrogen fixation by rhizobia — the roots of a success story. **Current Opinion in Plant Biology**, 44, 7-15. doi:10.1016/j.pbi.2017.12.001

MEINNEL T, GIGLIONE C. Protein lipidation meets proteomics. **Front Biosci** 2008; 13:6326-40.

MEINNEL T, GIGLIONE C. Tools for analyzing and predicting N-terminal protein modifications. **Proteomics**. 2008; 8:626-49.

MELLOR H, PARKER PJ (1998). "The extended protein kinase C superfamily". **Biochem. J.** 332. (Pt 2): 281-92. PMC 1219479. PMID 9601053.

MUTHUKUMARASAMY, R.; KANG, U. G.; PARK, K. D.; JEON, W. T.; PARK, C. Y.; CHO, Y. S.; KWON, S. W.; SONG, J.; ROH, D. H.; REVATHI, G. Enumeration, isolation and identification of diazotrophs from Korean wetland rice varieties grown with long-term application of N and compost and their short-term inoculation effect on rice plants. **Journal of Applied Microbiology**, v. 102, n. 4, p. 981-991, 2007.

MUTHUKUMARASAMY, R.; REVATHI, G.; SESHADRI, S.; LAKSHMINARASIMHAN, C. *Gluconacetobacter diazotrophicus* (syn. *Acetobacter diazotrophicus*), a promising diazotrophic endophyte in tropics. **Current Science**, India, v. 83, n. 2, p. 137-145, 2002.

NEIS, A., & da SILVA PINTO, L. (2021). Glycosyl hydrolases family 5, subfamily 5: relevance and structural insights for designing improved biomass degrading cocktails. **International Journal of Biological Macromolecules**, 193, 980-995.

NOVO, L. Ab et al. Plant growth-promoting rhizobacteria-assisted phytoremediation of mine soils. In: Bio-geotechnologies for mine site rehabilitation. **Elsevier**, 2018. p. 281-295.

ODENIYI, M.A.; JAIYEGBA, K.T. Optimization of ascorbic acid tablet formulations containing hydrophilic polymers. **Farmacia**, v.57, n.2, p.157-166, 2009.

OLIVEIRA, IZAMARA GESIELE BEZERRA DE. Modelagem in silico do gene gumD e sua rede de interação em *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. 2023. 115f. Trabalho de Conclusão Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - PPGCA) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande - PB, 2023.

PATEL, ANIL, K.; SINGHANIA, REETA RANI; SIM, SANG JUN; PANDEY, ASHOK. Thermostable cellulases: current status and perspectives. **Bioresource Technology**, [S.L.], v. 279, p. 385-392, maio, 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2019.01.049>.

PHUKAN, MAYUR M.; CHUTIA, RAHUL S.; KONWAR, B.K.; KATAKI, R. Microalgae *Chlorella* as a potential bio-energy feedstock. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3307-3312, out. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.11.026>.

PICARD, K., TIRILLY, Y., & BENHAMOU, N. (2000). Cytological effects of cellulases in the parasitism of *Phytophthora parasitica* by *Pythium oligandrum*. **Applied and Environmental Microbiology**, 66(10), 4305-4314.

PRUST, C., HOFFMEISTER, M., LIESEGANG, H., WIEZER, A., FRICKE, W. F., EHRENREICH, A., ... DEPPENMEIER, U. (2005). Complete genome sequence of the acetic acid bacterium *Gluconobacter oxydans*. **Nature Biotechnology**, 23(2), 195-200. doi:10.1038/nbt1062

RAFI, M. M.; KRISHNAVENI, M. S.; CHARYULU, P. B. B. N. Phosphate-solubilizing microorganisms and their emerging role in sustainable agriculture. **Recent developments in applied microbiology and biochemistry**, p. 223-233, 2019.

RAJNISH, K. NARAYANAN; SAMUEL, MELVIN S.; J, ASHWINI JOHN; DATTA, SAPTASHWA; CHANDRASEKAR, NARENDHAR; BALAJI, RAMACHANDRAN; JOSE, SUJIN; SELVARAJAN, ETHIRAJ. Immobilization of cellulase enzymes on nano and micromaterials for breakdown of cellulose for biofuel production-a narrative review. **International Journal Of Biological Macromolecules**, v. 182, p. 1793-1802, jul. 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.05.176>.

RAMACHANDRAN, S.; PATEL, A.K.; NAMPOOTHIRI, K.M.; FRANCIS, F.; NAGY, V.; SZAKACS, G.; PANDEY, A. Coconut oil cake - a potential raw material for the production of amylase. **Bioresource Technology**, v. 93, p. 169-174, 2004.

RAMACHANDRAN, S.; ROOPESH, K.; NAMPOOTHIRI, K.M.; SZAKACS, G.; PANDEY, A. Mixed substrate fermentation for the production of phytase by *Rhizopus spp.* using oilcakes as substrates. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1749-1754, 2005.

RESTREPO-FRANCO, G. M., MARULANDA-MORENO, S., FE-PÉREZ, Y. D. L., DÍAZ-DE LA OSA, A., BALDANI, V. L. D., & HERNÁNDEZ-RODRÍGUEZ, A. (2015). Bacterias solubilizadoras de fosfato y sus potencialidades de uso en la promoción del crecimiento de cultivos de importancia económica.

ROCHA, C.P. Otimização da Produção de enzimas por *Aspergillus niger* em Fermentação em estado sólido. 2010. 136f. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.

RODRIGUES, E. P. et al. Identification of genes involved in indole-3-acetic acid biosynthesis by *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 strain using transposon mutagenesis. **Front Microbiol**, v. 7, p. 1572, 2016.

RODRÍGUEZ COUTO, S.; ROSALES, E.; GUNDÍN, M.; SANROMÁN, M.A. Exploitation of a waste from the brewing industry for laccase production by two *Trametes* sp. **Journal of Food Engineering**, v. 64, p. 423-428, 2004.

RUEGGER, M.J.S.; TAU-K-TORNISIELO, S.M. (2004) Atividade da celulase de fungos isolados do solo da Estação Ecológica de Juréia-Itatins. **Revista Brasileira de Botânica**, n.2, v.27, p.205-211.

SANG-MOK, L., & KOO, Y. M. (2001). Pilotscale production of cellulase using *Trichoderma reesei* Rut C-30 in fedbatch mode. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, 11(2), 229-233.

SANTOS DIAS, A.; SANTOS, C. C. Bactérias promotoras de crescimento de plantas: conceitos e potencial de uso. Nova Xavantina-MT: Pantanal, 2022. E-book: 100p.

SANTOS, L. M. L. Análise proteômica da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus*: estabelecimento de um banco proteômico, análise diferencial e implicações na anotação do genoma. 2007. 184f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Biofísica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SARAF, M.; PANDYA, U.; THAKKAR, A. Role of allelochemicals in plant growth promoting rhizobacteria for biocontrol of phytopathogens. **Microbiological research**, v. 169, n. 1, p. 18-29, 2014.

SHINDE, R.; SHAHI, D. K.; MAHAPATRA, P.; NAIK, S. K.; THOMBARE, N.; SINGH, A. K. Potencial de microrganismos degradadores de lignocelulose para decomposição de resíduos agrícolas no solo: uma revisão. **Journal of Environmental Management**, v. 320, 115843, 2022.

SILVA, R. et al. *Gluconacetobacter diazotrophicus* changes the molecular mechanisms of root development in *Oryza sativa* L. growing under water stress. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 1, p. 333, 2020.

SOLANO, B. R.; MAICAS, J. B.; MAÑERO, FJ GUTIÉRREZ. Physiological and molecular mechanisms of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). Plant-bacteria interactions: Strategies and techniques to promote plant growth. **Weinheim: Wiley**, p. 41-52, 2008.

SOMERS, E.; VANDERLEYDEN, J.; SRINIVASAN, M. Rhizosphere bacterial signaling: A love parade beneath our feet. **Critical Reviews in Microbiology**, v.30, p.205-240, 2004

STEPHAN, M. P.; OLIVEIRA, M.; TEIXEIRA, K. R. S.; MARTINEZ-DRETS, G.; DOBEREINER, J. Physiology and nitrogen fixation of *Acetobacter diazotrophicus*. **FEMS Microbiology Letters**, Rio de Janeiro, v. 77, n. 1, p. 67-72, 1991.

SUKHARNIKOV, LEONID O.; CANTWELL, BRIAN J.; PODAR, MIRCEA; ZHULIN, IGOR B. Cellulases: ambiguous nonhomologous enzymes in a genomic perspective. **Trends In Biotechnology**, [S.L.], v. 29, n. 10, p. 473-479, out. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2011.04.008>.

THIEMANN, J.E.; XAVIER, M.S.S.P.; COLEN, G.; Guia, M.M. (1980) Produção de celulases e hidrólise enzimática de resíduos celulósicos. In Fermentações Industriais e Transformações Microbianas no solo (coord.: Furtado, J.S.). **Sociedade Brasileira de Microbiologia**, São Paulo, p.168-185.

TODOROVA, S., & KOZHUHAROVA, L. (2010). Characteristics and antimicrobial activity of *Bacillus subtilis* strains isolated from soil. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 26, 1207-1216.

VAN LANGENHOVE, L., DEPAEPE, T., VERRYCKT, L. T., FUCHSLUEGER, L., DONALD, J., LEROY, C., ... & JANSSENS, I. A. (2021). Comparable canopy and soil free-living nitrogen fixation rates in a lowland tropical forest. **Science of the Total Environment**, 754, 142202.

VENTURI V, KEEL C. Signaling in the Rhizosphere. **Trends Plant Sci.** 2016 Mar;21(3):187-198. doi: 10.1016/j.tplants.2016.01.005. Epub 2016 Jan 29. PMID: 26832945.

VESSEY, J.K. (2003) Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biofertilizers. **Plant and Soil**, 255, 571-586. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1026037216893>

WANDERLEY, K. M. et al. Regulação da biossíntese de exopolissacarídeos de *Gluconacetobacter diazotrophicus* por fosforilação de uma Tirosina quinase. 2019.

ZHANG, H.; LI, Q.; ZHAO, Y.; ZHANG, M.; XU, D.; WU, Z.; ZHOU, Q. Atividade de endoglucanase de bactérias celulolíticas de sedimentos de lago e sua aplicação na degradação de hidrófitas. **FEMS Microbiology Letters**, v. 367, n. 24, dez. 2020.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter me sustentado e me abençoado, por ter me conduzido até aqui e me tranquilizado nos momentos de angústia, e pela intercessão de Nossa Senhora, por sempre acolher as minhas súplicas.

Ao meu orientador Dr. Carlos Henrique Meneses, pela confiança em mim depositada, pelo apoio e incentivo, e pela oportunidade de aprendizagem.

À minha coorientadora Dra. Nathalia Medeiros, pelas contribuições e ensinamentos valiosos sobre bioinformática, e seu direcionamento.

Aos meus pais, Maria e Afonso, por todo carinho, amor, cuidado, paciência e dedicação. Aos meus irmãos, Alessandra e Alex, pelo cuidado, proteção e incentivo. À minha irmã, Sara, por ter dividido seus dias comigo desde o ventre de nossa mãe, por ser minha grande companheira, amiga e incentivadora. À minha sobrinha, Darah, por ser meu xodó e minha alegria desde que nasceu. Ao meu cunhado Anderson, por fazer parte da nossa família e por nos ajudar sempre. Amo vocês de todo o meu coração!

À minha avó, Ana Rosa, por todo amor, zelo e carinho, por ser um exemplo de fé e doçura.

Aos meus avós, Maria do Carmo, José Duarte e José do Bú, que, embora fisicamente ausentes, contribuíram para que eu me tornasse quem sou hoje e estarão sempre no meu coração.

Aos meus tios e primos, por todos os ensinamentos, cuidado, brincadeiras e apoio. Amo vocês!

Aos meus padrinhos e avós do coração, David Ribeiro (*in memoriam*), Ivanda, Celina e Rubens, por terem me acolhido e me tratado com tanto amor.

Aos meus colegas de estágio que se tornaram bons amigos, em especial, Luiza, Silvaney e Andrea, pelo carinho, parceria e ensinamentos valiosos.

Aos meus amigos mais próximos, Soliene, Kelly, Giordana, Rodrigo, Antônio e Álvaro, pela amizade, pelo cuidado, conselhos e apoio. Amo vocês!

Aos amigos que dividiram os desafios da graduação comigo, David, Gabriely, Estefany, Elizângela, Luciana, Eclésio, Vandemberg, Mariana, Emily, Victor e Bruno, por tornarem meus dias mais felizes, por me ajudarem quando precisei e por terem sido os melhores companheiros de classe que alguém poderia ter. Amo vocês!

Aos componentes da banca, Dra. Maria José e Me. Izamara Gesiele, por aceitarem o convite e pelas contribuições para o enriquecimento deste trabalho.

Ao corpo docente da UEPB, coordenação, funcionários e todos que contribuíram de alguma forma com a minha formação.

Ao meu Senhor e meu Deus, todo louvor, toda Honra e toda Glória!

