



ATIVIDADE PECTINOLÍTICA DE RIZÓBIOS DE REGIÃO SEMIÁRIDA

Valéria Maria Araújo Silva¹; Ana Clarice Melo Azevedo de Meneses¹; Samuel Moraes Mesquita²; Claudia Miranda Martins³; Suzana Cláudia Silveira Martins³

1 Doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal do Ceará (mariavaleria@yahoo.com.br) Fortaleza-Brasil

2 Estudante do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará

3 Profa Dra do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará

Recebido em: 06/04/2019 – Aprovado em: 10/06/2019 – Publicado em: 30/06/2019
DOI: 10.18677/EnciBio_2019A135

RESUMO

Os solos constituem ambientes heterogêneos, onde comunidades microbianas diversas realizam funções ecológicas relevantes como a fixação biológica de nitrogênio. Habitando este ambiente diversificado encontram-se os rizóbios, bactérias capazes de associar-se simbioticamente com leguminosas, como o feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], promovendo a fixação biológica de nitrogênio atmosférico. Contudo a entrada do micro-organismo no interior do vegetal depende da ação coordenada de diversas enzimas extracelulares capazes de degradar os principais componentes da parede celular, como a pectina. Neste sentido, o presente estudo objetivou avaliar a atividade pectinolítica de cepas de rizóbios isoladas de nódulos radiculares de feijão-caupi do semiárido nordestino. Vinte e seis cepas de rizóbios foram inoculadas em meio TSA (triptona soja ágar) suplementado com 1% de pectina cítrica e incubadas a 28°C por 10 dias. Em seguida foi realizada a determinação do índice enzimático (IE) através da medição do halo de hidrólise e diâmetro da colônia após adição de 10 mL de solução de lugol. A atividade pectinolítica foi observada em 58% (15) das cepas de rizóbios. As cepas L83, L97, L94, destacaram-se com IEs, de 5,11, 4,96 e 4,57, respectivamente. A produção de pectinases por cepas de rizóbios de região semiárida demonstra o potencial desses micro-organismos na infecção radicular em leguminosas, podendo atuar como promotoras de crescimento vegetal.

PALAVRAS-CHAVE: Bactérias diazotróficas. Enzimas hidrolíticas. Feijão-caupi. Solo.

PECTINOLYTIC ACTIVITY OF RHIZOBIA OF SEMIARID REGION

ABSTRACT

Soils are heterogeneous environments, where diverse microbial communities perform relevant ecological functions such as biological nitrogen fixation. Inhabiting this diverse environment are the rhizobia, bacteria that are able to associate symbiotically with legumes, such as cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.], promoting the biological fixation of atmospheric nitrogen. However, the entry of the microorganism into the plant depends on the coordinated action of several extracellular enzymes

capable of degrading the main components of the cell wall, such as pectin. In this sense, the present study aimed to evaluate the pectinolytic activity of strains of rhizobia isolated from root nodules of cowpea of the northeastern semiarid region. Twenty-six rhizobia strains were inoculated in TSA medium (tryptone soy agar) supplemented with 1% citrus pectin and incubated at 28°C for 10 days. Then, the enzymatic index (EI) was determined by measuring the hydrolysis halo and colony diameter after adding 10 mL lugol solution. The pectinolytic activity was observed in 58% (15) of the rhizobia strains. The strains L83, L97, L94, stood out with EIs, of 5,11, 4,96 and 4,57, respectively. The production of pectinases by strains of rhizobia in the semiarid region demonstrates the potential of these microorganisms in root infection in legumes, and can act as promoters of plant growth.

KEYWORDS: Cowpea beans. Diazotrophic. Hydrolases. Soil

INTRODUÇÃO

Os solos constituem ambientes heterogêneos coordenados por fatores físicos, químicos e biológicos que influenciam sua dinâmica funcional e afetam diretamente a sobrevivência e o funcionamento dos micro-organismos que nele habitam (MOHANRAM; KUMAR, 2019). Neste ambiente de múltiplos mosaicos, a região rizosférica representa um nicho favorável a diversos grupos de micro-organismos, uma vez que a exsudação radicular disponibiliza diversas substâncias que são utilizadas pelo metabolismo microbiano (PRASHAR et al., 2014).

A rizosfera, compreendida como a área subjacente as raízes de leguminosas, compõe um ambiente único no solo, no qual diversos grupos de bactérias de vida livre e simbiontes a tem como *hábitat* preferencial (HINSINGER et al., 2009; PRASHAR et al., 2014). Dentre os grupos microbianos abundantes e de grande interatividade presentes neste local do solo, destacam-se os rizóbios.

Os rizóbios são bactérias diazotróficas Gram-negativas que podem estabelecer simbiose mutualística com espécies vegetais denominadas genericamente de leguminosas e, com as quais estabelecem interações altamente específicas que permitem a fixação biológica de nitrogênio (FBN) (ROYCHOWDHURY et al., 2015). Além de atuarem na FBN também são reconhecidos como promotores de crescimento vegetal, graças à ação de diversos processos metabólicos capazes de solubilizar e mineralizar compostos essenciais para o crescimento vegetal (SCHMIDT et al., 2019).

O processo de FBN ocorre através da infecção radicular devido a produção de enzimas como celulasas e pectinases que rompem a parede celular das plantas, a qual contém polissacarídeos recalcitrantes como celulose, hemiceluloses e pectinas (ARTZI et al., 2016). Dentre as leguminosas noduladas por rizóbios, pode-se citar o feijão-caupi [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] (PULE-MEULENBERG et al., 2010; FARIAS et al., 2016; FERREIRA et al., 2019). Devido à sua capacidade simbiótica com diversos gêneros e espécies de bactérias, tal leguminosa é empregada como planta-isca em estudos sobre rizóbios e consegue apropriar-se das amplas vantagens da FBN (GUIMARÃES et al., 2012).

A degradação da parede celular vegetal é indispensável à nodulação radicular de leguminosas (ROBLEDO et al., 2008) e as pectinases são enzimas capazes de romper essas estruturas (HUGOUVIEUX-COTTE-PATTAT et al., 2014). Os rizóbios produtores de pectinases conseguem degradar compostos da parede celular das plantas, infectar suas raízes e promover a formação de nódulos nos quais os bacteroides podem se instalar e estabelecer a FBN (FAUVART et al., 2009).

Estudos em regiões semiáridas apontam a presença de rizóbios nos solos e indicam a importância desse grupo no estabelecimento e manutenção de comunidades vegetais cruciais para manutenção de serviços ecossistêmicos (CUNHA et al., 2018; DEKAK et al., 2018). Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade pectinolítica de rizóbios isolados de nódulos radiculares de feijão-caupi de solo semiárido.

MATERIAL E MÉTODOS

ORIGEM DAS CEPAS

Amostras de solo rizosférico de 12 leguminosas da família *Fabaceae* foram coletadas na estação seca no período de agosto de 2012 no parque Nacional de Ubajara (PNU), região semiárida localizada no Estado do Ceará. As amostras foram colocadas em vasos e logo após inseridas as sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. (feijão-caupi). Após 30 dias os nódulos presentes nas raízes da planta isca foram coletados para isolamento das bactérias. Posteriormente, as bactérias identificadas como rizóbios foram inoculados novamente em substrato estéril contendo sementes de feijão-caupi. A formação de nódulos afirmou a autenticação das cepas de rizóbios. Um total de 26 cepas de rizóbios foram autenticadas e caracterizados por Silva et al. (2014) e Feitoza et al. (2015) como *Bradyrhizobium* spp (L84, L85, L86, L87, L89, L90, L92, L93, L94, L95, L97, L99, L101, L102, L103, L104, L107, L108, L109) e *Burkholderia* spp (L91, L96, L105). As cepas L83, L98, L100 e L110 não foram identificadas. Estas cepas fazem parte da coleção de bactérias diazotróficas do semiárido do Laboratório de Microbiologia Ambiental (LAMAB), Departamento de Biologia da Universidade Federal do Ceará.

ATIVIDADE PECTINOLÍTICA

As cepas de rizóbios foram inoculadas em quadruplicata na forma de *spots* em placas de Petri contendo o meio TSA composto de: triptona (1,5g); peptonas de soja (0,5g); NaCl (1,5g); ágar (15g), 1000 mL de água destilada, pectina cítrica (1%) e pH 7,3. Logo após, foram incubadas a 28°C por 10 dias em B.O.D. e ao final deste período foram adicionados 10 mL de lugol para visualização do halo de hidrólise ao redor das colônias (MINOTTO et al., 2014). Cada ensaio experimental teve ao menos duas repetições.

DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE ENZIMÁTICO (IE)

O IE da atividade pectinolítica para cada cepa foi determinado pela razão entre o diâmetro do halo de hidrólise (Dh) e o diâmetro da colônia (Dc) medidos em mm através de um paquímetro digital. As médias aritméticas dos IEs foram avaliadas pelo teste de normalidade Shapiro-Wilk, e posterior a análise de variância foi realizado o teste de Tukey a 95% de significância utilizando o programa estatístico Prims 5.0 (GraphPad Software*, San Diego, CA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Considerados como elementos fundamentais na ciclagem de materiais de natureza distinta, os micro-organismos constituem comunidades diversas no solo envolvidos em múltiplas atividades e fazendo parte de uma rede de interações responsáveis pela manutenção de serviços ecossistêmicos importantes, como a decomposição de polissacarídeos (DELGADO- BEQUERIZO et al., 2016).

Em ambiente natural os polissacarídeos encontram-se geralmente associados, formando estruturas complexas o que requer a ação sinérgica de diversas enzimas para sua completa degradação (TALAMANTES et al., 2016). No caso da pectina, a ação combinada de três grupos de enzimas, denominadas genericamente de pectinases são responsáveis pela quebra das cadeias de substratos pectinolíticos (SHET et al., 2018).

Das 26 cepas de rizóbios avaliadas 15 (58%) apresentaram a produção de pectinases, com IEs superiores a 2 (Figura 1). Dentre as cepas com maior atividade hidrolítica extracelular para estas enzimas, a cepa L83 apresentou IE de 5,11, enquanto que as cepas L94, L95 e L97 caracterizadas como *Bradyrhizobium* spp, também exibiram IE elevado, variando de 3,96 para cepa L95 a 4,96 para a cepa L97, e não diferindo estatisticamente da cepa L83, $p > 0,05$.

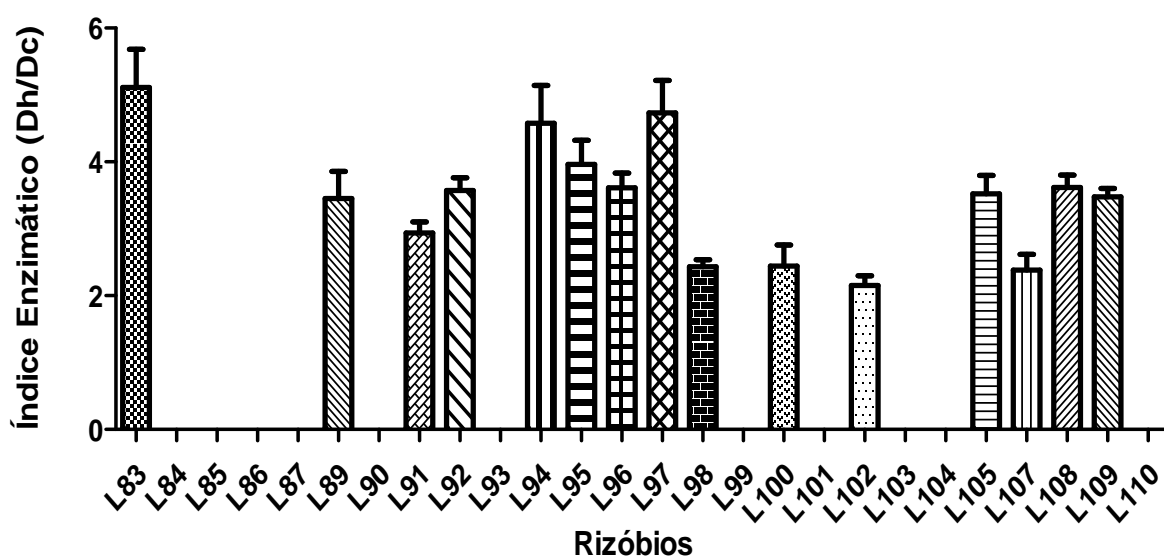


FIGURA 1: Índice enzimático da atividade pectinolítica de cepas de rizóbios. Acervo dos autores.

Oliveira et al. (2006) ao analisarem a atividade de hidrolases em rizóbios nativos da região amazônica, identificaram que nenhuma cepa foi capaz de produzir pectinases, diferindo dos rizóbios avaliados no atual trabalho, no qual a atividade pectinolítica foi observada em mais de 50% das cepas. Outro estudo realizado no cerrado brasileiro com bactérias isoladas da rizosfera da cana-de-açúcar, demonstrou que de 36 isolados apenas 3(8%) foram produtores de enzimas pectinolíticas (RODRIGUES et al., 2016). Entretanto, Dekak et al. (2018) ao investigarem a atividade de pectinases em rizóbios isolados de região semiárida do mediterrâneo, constataram que todas as 13 cepas avaliadas apresentaram pectinases.

Essa variação entre a presença ou não de pectinases em cepas de rizóbios identificadas nas diferentes áreas pesquisadas deve-se a presença de genes microbianos que codificam a formação de pectinases, pois eles são fundamentais para o processo de infecção da raiz por rizóbios (XIE et al., 2012). Dentre as cepas produtoras de enzimas pectinolíticas as cepas L89, L92, L95, L108 e L109 (*Bradyrhizobium* spp) e L96 e L105 (*Burkholderia* spp) apresentaram halo de hidrólise tendo IEs superiores a 3, enquanto as cepas L91 (*Burkholderia* spp), L98, L100, L102 e L107 (*Bradyrhizobium* spp) tiveram IEs acima de 2 (Figura 2).

Os rizóbios são bactérias simbiotes, contudo essa simbiose depende da especificidade, infectividade e eficácia do rizóbio e segue uma série de etapas que culminam com o micro-organismo no interior do vegetal (PEIX et al., 2015). Assim, a entrada da bactéria no interior dos tecidos vegetais requer a presença de enzimas capazes de degradar os polissacarídeos complexos presentes na parede celular das plantas (ROBLEDO et al., 2015).

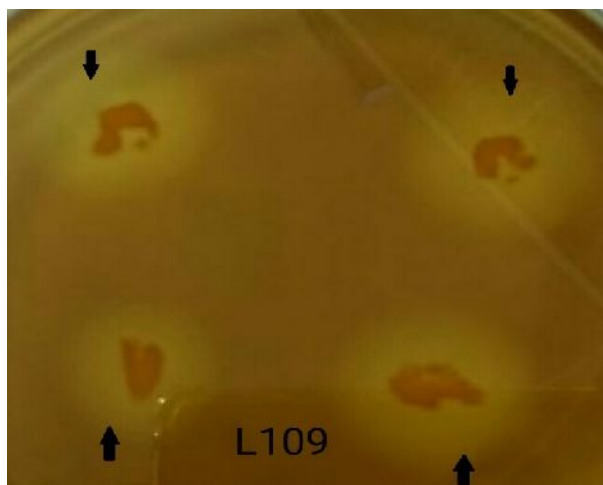


FIGURA 2: Atividade pectinolítica da cepa de rizóbio L109. As setas indicam as regiões claras ao redor das colônias identificando a presença do halo de hidrólise da pectinase. Acervo dos autores

Enzimas microbianas podem contribuir para degradação de componentes da parede celular vegetal (ROBLEDO et al., 2018). Logo, a presença de pectinases sugere maiores chances de estabelecimento de simbioses entre rizóbios e leguminosas, sobretudo em solos semiáridos, que se caracterizam por serem oligotróficos e pelas variações sazonais restritivas.

CONCLUSÕES

Cepas de rizóbios do semiárido produziram pectinases capazes de degradar componentes pectinolíticos da parede celular vegetal, sugerindo eficiência no processo de infecção radicular, podendo atuar, assim, como promotoras do crescimento vegetal.

REFERÊNCIAS

ARTZI, L.; BAYER, A. E.; MORAÏS, S. Cellulosomes: bacterial nanomachines for dismantling plant polysaccharides. **Nature Reviews Microbiology**, v. 15, n. 2, p. 83-95, 2016. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/nrmicro.2016.164>>. Doi: 10.1038/nrmicro.2016.164.

CUNHA, M. G.; PINHEIRO, M. S.; CAVALCANTE, F. G.; MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. Caracterização cultural e tolerância a pH extremos de rizóbios oriundos da região de Baixo Acaraú no Ceará. **Enciclopédia Biosfera**, v. 15, n. 28, p.977-985, 2018. Disponível em:<<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2018B/BIO/caracterizacao.pdf>>. Doi: 10.18677/EnciBio_2018B79.

DELGADO-BAQUERIZO, M.; MAESTRE, F. T.; REICH, P. B.; JEFFRIES, T. C.; GAITAN, J. J.; ENCINAR, D.; BERDUGO, M.; CAMPBELL, C. D.; SINGH, B. K.

Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. **Nature Communications**, v. 7, n. 10541, p. 1-8, 2016. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/ncomms10541>>. Doi: 10.1038/ncomms10541.

DEKAK, A.; CHABI, R.; MENASRIA, T.; BENHIZIA, Y. Phenotypic characterization of rhizobia nodulating legumes *Genista microcephala* and *Argyrolobium uniflorum* growing under arid conditions. **Journal of Advanced Research**, v. 14, p. 35-42, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jare.2018.06.001>>. Doi: 10.1016/j.jare.2018.06.001.

FAUVART, M.; VERSTRAETEN, N.; DOMBRECHT, B.; VENMANS, R.; BEULLENS, S.; HEUSDENS, C.; MICHIEL, J. *Rhizobium etli* HrpW is a pectin-degrading enzyme and differs from phytopathogenic homologues in enzymically crucial tryptophan and glycine residues. **Microbiology**, v. 155, p. 3045-3054, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1099/mic.0.027599-0>>. doi: 10.1099/mic.0.027599-0.

FARIAS, T. P.; TROCHMANN, A.; SOARES, B. L.; MOREIRA, F. M. S. Rhizobia inoculation and liming increase cowpea productivity in Maranhão State. **Acta Scientiarum**, v. 38, n. 3, p. 387-395, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4025/actasciagron.v38i3.28630>>. Doi: 10.4025/actasciagron.v38i3.28630.

FEITOZA, R. M.; SILVA, L. L.; PINHEIRO, M. S.; MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. Physiological and biochemistry diversity of *rhizobium* strains from the semiarid. **Enciclopédia Biosfera**, v. 11, n. 21, p. 794-806, 2015. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2015b/agrarias/Diversidade%20fisiologica.pdf>>.

FERREIRA, P. A. A.; PEREIRA, J. P. A. R.; OLIVEIRA, D. P.; VALE, H. M. M.; JESUS, E. C.; SOARES, A. L. L.; NOGUEIRA, C. O. G.; ANDRADE, M. J. B.; MOREIRA, F. M. S. New rhizobia strains isolated from the Amazon region fix atmospheric nitrogen in symbiosis with cowpea and increase its yield. **Bragantia**, v. 78, n. 1, p.38-42, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1678-4499.2018053>>. Doi: 10.1590/1678-4499.2018053.

GUIMARÃES, A. A.; JARAMILLO, P. M. D.; NÓBREGA, R. S. A.; FLORENTINO, L. A.; SILVA, K. B.; MOREIRA, F. M. S. Genetic and symbiotic diversity of nitrogen fixing bacteria isolated from agricultural soils in the western Amazon by using cowpea as the trap plant. **Applied and Environmental Microbiology**, v.78, n. 18, p. 6726-6733, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.01303-12>>. Doi: 10.1128/AEM.01303-12.

HINSINGER, P.; BENGOUGH, A. G.; VETTERLEIN, D.; YOUNG, I. M. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. **Plant Soil**, v. 321, n.1, p. 117-152, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11104-008-9885-9>>. Doi: 10.1007/s11104-008-9885-9.

HUGOUVIEUX-COTTE-PATTAT, N.; CONDEMINÉ, G.; SHEVCHIK, V. E. Bacterial pectate lyases, structural and functional diversity. **Environmental Microbiology Reports**, v. 6, n. 5, p. 427-440, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/1758-2229.12166>>. Doi: 10.1111/1758-2229.12166.

MINOTTO, E.; MILAGRE, L. P.; OLIVEIRA, M. T.; VAN DER SAND, S. T. Enzyme characterization of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants. **Journal of Advanced Scientific Research**, v. 5, n. 2, p. 16-23, 2014. Disponível em: <https://www.academia.edu/29371323/Enzyme_Characterization_of_Endophytic_Actinobacteria_Isolated_from_Tomato_Plants>.

MOHANRAM, S.; KUMAR, P. Rhizosphere microbiome: revisiting the synergy of plant-microbe interactions. **Annals of Microbiology**, v. 69, n. 4, p. 307-320, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13213-019-01448-9>>. Doi: 10.1007/s13213-019-01448-9.

OLIVEIRA, A. N.; OLIVEIRA, L. A.; ANDRADE, J. S.; CHAGAS JUNIOR, A. F. Enzimas hidrolíticas extracelulares de isolados de rizóbia nativos da Amazônia central, Amazonas, Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 853-860, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612006000400022>>. doi: 10.1590/S0101-20612006000400022.

PEIX, A.; RAMÍREZ-BAHENA, M. H.; VELÁZQUEZ, E.; BEDMAR, E. J. Bacterial associations with legumes. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 34, p. 17-42, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1080/07352689.2014.897899>>. Doi: 10.1080/07352689.2014.897899.

PRASHAR, P.; KAPOOR, N.; SACHDEVA, S. Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 13, n. 1, p. 63-77, 2014. Disponível em: <<http://lira.pro.br/wordpress/wp-content/uploads/2014/11/Prashar-et-al-2014.pdf>>. Doi: 10.1007/s11157-013-9317-z.

PULE-MEULENBERG, F., BELANE, A.K., KRASOVA-WADE, T., DAKORA, F.D. Symbiotic functioning and bradyrhizobial biodiversity of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) in Africa. **BMC Microbiology**, v. 10, n. 89, p. 1-12, 2010. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/1471-2180/10/89>> Doi: 10.1186/1471-2180-10-89.

ROBLEDO, M.; JIMÉNEZ-ZURDO, J. I.; VELÁZQUEZ, E.; TRUJILLO, M. E.; ZURDO-PIÑEIRO, J. L.; RAMÍREZ-BAHENA, M. H.; RAMOS, B.; DÍAZ-MÍNGUEZ, J. M.; DAZZO, F.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; MATEOS, P. F. *Rhizobium* cellulase CelC2 is essential for primary symbiotic infection of legume host roots. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, n. 19, p. 7064-7069, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0802547105>>. Doi: 10.1073/pnas.0802547105.

ROBLEDO, M.; RIVERA, L.; MENÉNDEZ, E.; MARTÍNEZ-HIDALGO, P.; RIVAS, R.; VELÁZQUEZ, E.; DAZZO, F. B.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; MATEOS, P. F. Role of *Rhizobium* Cellulase CelC2 in host root colonization and infection. In: **Biological Nitrogen Fixation**. v. 2, 1ª ed., John Wiley & Sons, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/9781119053095.ch53>>. Doi: 10.1002/9781119053095.ch53. ROBLEDO, M.; MENÉNDEZ, E.; JIMÉNEZ-ZURDO, J. I.; RIVAS, R.; VELÁZQUEZ, E.; MARTÍNEZ-MOLINA, E.; OLDROYD, G.; MATEOS, P. F. Heterologous expression of rhizobial CelC2 cellulase impairs symbiotic signaling and nodulation in

Medicago truncatula. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 31, n. 5, p. 568-575, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1094/MPMI-11-17-0265-R>>. Doi: 10.1094/MPMI-11-17-0265-R.

RODRIGUES, A. A.; FORZANI, M. V.; SOARES, R. S.; SIBOV, S. T.; VIEIRA, J. D. G. Isolation and selection of plant growth-promoting bacteria associated with sugarcane. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 46, n. 2, p. 149-158, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/1983-40632016v4639526>>. Doi: 10.1590/1983-40632016v4639526.

ROYCHOWDHURY, D.; PAUL, M.; BANERJEE, S. K. Isolation identification and characterization of bacteria (*Rhizobium*) from chick pea (*Cicer arietinum*) and production of biofertilizer. **European Journal of Biotechnology and Bioscience**, v. 3, n. 12, p. 26-29, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.22271/bioscience>>. Doi: 10.22271/bioscience.

SCHMIDT, T. M.; THOMÉ, A. H. E.; SPEROTTO, R. A.; GRANADA, C. E. Effect of rhizobia inoculation on the development of soil-borne pathogens infecting common bean plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 153, n. 3, p.687-694, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s10658-018-1600-y>>. Doi: 10.1007/s10658-018-1600-y.

SHET, A. R.; DESAI, S. V.; ACHAPPA, S. Pectinolytic enzymes: classification, production, purification and applications. **Research Journal of Life Sciences, Bioinformatics, Pharmaceutical and Chemical Sciences**, v. 4, n. 3, p.337-348, 2018. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/327237513_PECTINOLYTIC_ENZYMES_CLASSIFICATION_PRODUCTION_PURIFICATION_AND_APPLICATION>. Doi: 10.26479/2018.0403.30.

SILVA, L. L.; PINHEIRO, M. S.; SOUSA, J. B.; MARTINS, S. C. S.; MARTINS, C. M. Diversidade de rizóbio da unidade de conservação Parque Nacional de Ubajara no Estado do Ceará. **Enciclopédia Biosfera**, v. 10, n. 19, p. 2141-2156, 2014. Disponível em:<<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2014b/CIENCIAS%20BIOLOGICAS/Diversidade%20de%20rizobio.pdf>>.

TALAMANTES, D.; BIABINI, N.; DANG, H.; ABDOUN, K.; BERLEMONT, R. Natural diversity of cellulases, xylanases, and chitinases in bacteria. **Biotechnology for Biofuels**, v. 9, n.133, p. 1-11, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s13068-016-0538-6>>. Doi: 10.1186/s13068-016-0538-6.

XIE, F.; MURRAY, J. D.; KIM, J.; HECKMANN, A. B.; EDWARDS, A.; OLDROYD, G. E.; DOWNIE, J. A. Legume pectate lyase required for root infection by rhizobia. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 2, p. 633-638, 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1113992109>>. doi: 10.1073/pnas.1113992109.