



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS
DA VIDA E DA NATUREZA (ILACVN)**

BIOTECNOLOGIA

BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ISOLADOS DA ANTÁRTICA

WARA BELEN ENCINAS ZANGA

Foz do Iguaçu

2025



**INSTITUTO LATINO-AMERICANO DE CIÊNCIAS
DA VIDA E DA NATUREZA (ILACVN)**

BIOTECNOLOGIA

BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ISOLADOS DA ANTÁRTICA

WARA BELEN ENCINAS ZANGA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Michel Rodrigo Zambrano Passarini.

Foz do Iguaçu

2025

WARA BELEN ENCINAS ZANGA

BIOPROSPECÇÃO DE FUNGOS ISOLADOS DA ANTÁRTICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Latino-Americano de Ciências da Vida e da Natureza da Universidade Federal da Integração Latino-Americana, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Foz do Iguaçu, 06 de agosto de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. Michel Rodrigo Zambrano Passarini
UNILA

Prof^a Dra. Caroline da Costa Silva Gonçalves
UNILA

Prof^a Dra. Nathalia Corrêa Chagas de Souza
UNILA

À minha pequena filha Ayla, que é a minha enzima da felicidade infinita. Você é uma extremofila, prosperando no meio da adversidade, sendo minha maestra na resiliência e transformação. Este trabalho é uma prova do que já conquistamos juntas, e um lembrete de que a ciência — assim como a vida — é cheia de descobertas incríveis. “Luz da lua”, que teu futuro seja tão vasto e maravilhoso quanto o mundo que exploramos com curiosidade e amor. Mamãe te ama para sempre.

AGRADECIMENTOS

A jornada até aqui foi tecida por muitas mãos, corações e encontros — e a cada um, deixo meu mais profundo agradecimento. A conclusão deste trabalho marca mais do que o encerramento de uma etapa acadêmica. Representa a síntese de um percurso repleto de desafios, afetos, aprendizados e reconstruções — pessoais, familiares, coletivas. É com o coração cheio de gratidão que dedico estas palavras a todas as pessoas que fizeram parte dessa jornada.

Agradeço especialmente ao professor Michel, meu orientador, por ter aceitado caminhar comigo neste trabalho, pela paciência, pelas orientações criteriosas e pelo acompanhamento constante. Sua atuação como autoridade do curso também foi fundamental, ajudando com matrícula, aproveitamento de disciplinas e tantas outras questões que exigiam atenção e empatia.

A Guilherme, que esteve presente em muitos momentos importantes desta caminhada. Compartilhamos juntos a experiência intensa do nascimento da Ayla — um marco que exigiu força, entrega e coragem. Ao longo do percurso, ele esteve ao meu lado nos estudos, colaborou com a parte prática do TCC e, acima de tudo, assumiu com responsabilidade e afeto seu papel de pai. Sempre criativo, brincalhão e disposto, com suas danças, músicas e pães de queijo, ajudou a tornar o cotidiano mais leve. Obrigada Gui!

À Professora Caroline, por ter aberto as portas da Iniciação Científica ao me convidar para atuar como voluntária em projetos com fungos — experiência que despertou meu interesse e encantamento pela microbiologia desde então.

Agradeço à professora Carla, pela gentileza e sensibilidade com minha maternidade desde o início. Ao professor Luciano, que, na época em que atuava na secretaria, sempre ofereceu apoio e incentivo nos corredores da universidade. Ao professor Samuel, que foi compreensivo com as aulas, avaliações e, além disso, participou das festinhas da Ayla com carinho. Ao professor Kelvinson, que defendeu minha filha diante de situações incômodas, demonstrando respeito e humanidade.

À professora Giovana, sempre otimista, que nunca demonstrou julgamento, mas sim encorajamento. À professora Nathalia, que se preocupava com nosso bem-estar e sempre nos ofereceu palavras de ânimo. À professora Marciana, que acolheu Ayla no colo para que eu pudesse realizar a prova com mais tranquilidade. À professora Márcia, que levou brinquedos para a Ayla brincar durante as aulas, e à professora Danubia, que nos aconselhava com carinho e distraía minha filha durante os exames. Agradeço à Jennyfer, que em um gesto de carinho e sensibilidade trouxe, em um dia especial, um tapete para que a Ayla pudesse brincar com mais conforto na sala. Atitudes como essa aqueceram nossos dias e mostraram que o afeto também habita os pequenos detalhes do cotidiano.

A todos os professores que adaptaram atividades durante o período em que estive de licença-maternidade, meu respeito e admiração. Agradeço também aos técnicos Gilson, Bruno, Carla, Wagner e ao Guilherme, que me apoiaram imensamente na parte prática do TCC, me ensinando com paciência no laboratório e ajudando a conseguir tudo o que era necessário para a realização deste trabalho.

Um agradecimento especial à professora Maria Eta, com quem compartilhei experiências em projetos de extensão. Foi ela quem, em um momento de desânimo, me olhou nos olhos e disse que, se eu quisesse, conseguiria mestrado, doutorado, ou o que mais desejasse. Suas palavras me empurraram para frente e me fizeram lembrar da importância de seguir sem perder a humanidade.

À minha avó, que faleceu este ano, mas que, enquanto soube da gravidez, me ajudou economicamente sem julgamentos. Foi ela quem cuidou de mim quando minha mãe precisava trabalhar e me dava uma salchipapa inteira todas as sextas, só porque eu gostava. Ao meu avô, que preparava comidas e bolos com carinho, retirava os espinhos do peixe e colocava por cima “gatinhas de limão”, transformando gestos simples em afeto profundo.

Às minhas tias Vânia, Eli e Ismelda, agradeço pelas diferentes formas de amor. A tia Eli esteve comigo no parto, cuidando de mim com ternura. A tia Vânia me salvou de muitos apertos, e a tia Ismelda, com sua honestidade e sabedoria, sempre me aconselhou com firmeza, sem hipocrisia. Ao meu tio, que no início da vida eu via como um pai, meu carinho permanece.

Aos meus pais, agradeço pela educação, pela exigência de força e pela oportunidade de ter crescido cercada por música. À minha irmã Aleli, que é presença constante, ainda que à distância. Ayla adora conversar com ela por telefone e sempre recebe com alegria os presentes que manda. Hoje minha mãe está por perto, me ajuda alguns dias com o cuidado da Ayla e tem demonstrado sua força de muitas formas. Ela é, acima de tudo, uma mulher forte — e isso, sem dúvida, é também parte de quem eu sou. E muito agradecimento a Alicia que houve todos os meus reclamos e cuida ternamente da minha bebê, e ao Victor que tem jogos que fazem a Ayla feliz.

Aos meus amigos — a “galera” — que estiveram desde o início e provavelmente foram os primeiros a saber da gravidez, meu amor eterno. À Aline, que guardou o segredo do sexo da bebê e cuidava da Ayla nos horários de laboratório; ao Sebas e à Ilenia, que também cuidaram com carinho; à Maria, que fez as lembrancinhas do chá de bebê; ao Leo, que organiza os jogos das festas; ao Luis, que também participa ativamente; à Laura, fotógrafa das festinhas, e à avó da Laura, que nos enviou presentes mesmo sem nos conhecer.

Agradeço também à Elizandra, ao André, à professora Maria e ao professor Cristian, que, sempre que puderam, nos ofereceram carona com gentileza e cuidado. Esses gestos, embora simples, fizeram grande diferença no nosso dia a dia, especialmente nos momentos em que a logística era um desafio. Sou profundamente grata por cada trajeto compartilhado e por toda a generosidade envolvida nesses pequenos grandes apoios.

À família da Nelly, no Paraguai, que se tornou uma segunda família sempre que pude visitá-los, e à Débora, que também me ajudou a cuidar da Ayla durante as aulas laboratoriais.

Ao Gianluca, que foi o primeiro amigo que fiz na cidade, ele sempre ajudava no ônibus com a Ayla e irradiava felicidade a todos nós.

Ao pastor Pardo, que foi um guia espiritual constante, sempre preocupado, chamando para saber como estávamos e dando sempre palavras sábias durante toda a minha vida.

Por fim, dedico este trabalho à minha filha **Ayla**, razão de tantas transformações e força. Que ela cresça sabendo que foi parte de tudo isso, que esteve presente nos corredores, nas salas de aula, nas provas, nas festas, nos dias difíceis e nas pequenas vitórias. Que ela saiba que, mesmo pequena, já fez parte de uma grande conquista.

*“Foi possível: Cada linha escrita carrega noites insones,
mãos cansadas e a coragem de quem segue em frente
mesmo quando tudo parece incerto. Este trabalho nasce
da ciência, mas também do amor: da minha filha, que me
inspira todos os dias; e das mulheres da minha família,
que me ensinaram, com trabalho e dignidade, a construir
meu próprio caminho. Este é só o início de uma
assombrosa jornada querida Ayla”*

- A autora

RESUMO

A biotecnologia microbiana tem desempenhado um papel central na descoberta e aplicação de enzimas com elevado valor industrial, especialmente aquelas capazes de atuar sob condições extremas. Nesse contexto, fungos isolados de amostras da Antártica apresentam grande potencial como fonte de biocatalisadores devido à sua capacidade adaptativa a ambientes de baixas temperaturas, alta radiação UV e escassez de nutrientes. Este estudo teve como objetivo investigar a produção das enzimas hidrolíticas celulase, amilase, lipase, protease e ligninases, por diferentes isolados fúngicos antárticos, com vistas à aplicação dessas enzimas nos setores alimentício, ambiental, energético e de bioprocessos. As linhagens foram cultivadas em meios específicos, com formulações otimizadas para a indução da expressão enzimática. A atividade celulolítica foi verificada por meio da hidrólise de carboximetilcelulose e coloração com vermelho Congo; a atividade amilolítica foi detectada com solução de iodo em meio de cultivo com amido; a atividade lipolítica foi avaliada por meio da formação de halos fluorescentes sob luz UV em meio contendo óleo de oliva e rodamina B e a atividade proteolítica foi evidenciada por zonas claras em meio com leite desnatado. Para a triagem de ligninases, foi utilizado guaiacol como indicador da atividade destas enzimas e outras oxidases fenólicas. A formação de halos ou alterações de coloração ao redor das colônias fúngicas foi considerada indicativa de produção enzimática. Os experimentos foram realizados em triplicata para garantir a confiabilidade dos dados. Dos 15 isolados avaliados, 3, 10, 6, 11 e 6 apresentaram atividade para celulase, amilase, lipase, protease e ligninase, respectivamente. As faixas de atividade observadas foram: para celulase, entre $4,0 \pm 0,9$ e $7,0 \pm 1,4$; para amilase, entre $4,0 \pm 0,01$ e $30,0 \pm 5,66$; para lipase, variando de fluorescência fraca a fluorescência intensa; para protease, entre $4,0 \pm 0,89$ e $31,0 \pm 6,01$; e para ligninase, de atividade baixa (+) a alta (+++), demonstrando serem promissores para aplicações biotecnológicas. Os resultados mostraram a relevância de fungos oriundos do continente antártico como fontes sustentáveis de enzimas, especialmente em processos que exigem estabilidade em condições adversas. O presente estudo contribui para a valorização dos recursos microbiológicos polares e amplia o conhecimento sobre as potencialidades biotecnológicas dos organismos de ambiente extremo.

Palavras-chave: amilase; biotecnologia; celulase; enzimas hidrolíticas; ligninases; fungos antárticos; Lipase; protease.

RESUMEN

La biotecnología microbiana ha desempeñado un papel central en el descubrimiento y aplicación de enzimas de alto valor industrial, especialmente aquellas capaces de actuar en condiciones extremas. En este contexto, los hongos aislados de muestras de la Antártida presentan un gran potencial como fuente de biocatalizadores debido a su capacidad adaptativa a ambientes de bajas temperaturas, alta radiación UV y escasez de nutrientes. Este estudio tuvo como objetivo investigar la producción de las enzimas hidrolíticas celulasa, amilasa, lipasa, proteasa y ligninasas, por diferentes aislados fúngicos antárticos, con miras a la aplicación de estas enzimas en los sectores alimentario, ambiental, energético y de bioprocesos, entre otros. Las cepas fueron cultivadas en medios específicos, con formulaciones optimizadas para la inducción de la expresión enzimática. La actividad celulolítica se verificó mediante la hidrólisis de carboximetilcelulosa y coloración con rojo Congo; la actividad amilolítica se detectó con solución de yodo en medio de cultivo con almidón; la actividad lipolítica se evaluó mediante la formación de halos fluorescentes bajo luz UV en medio que contenía aceite de oliva y rodamina B; y la actividad proteolítica se evidenció por zonas claras en medio con leche descremada. Para el cribado de ligninasas, se utilizó guayacol como indicador de la actividad de estas enzimas y otras oxidasas fenólicas. La formación de halos o alteraciones de color alrededor de las colonias fúngicas se consideró indicativa de producción enzimática. Los experimentos se realizaron por triplicado para garantizar la fiabilidad de los datos. De los 15 aislados evaluados, 3, 10, 6, 11 y 6 presentaron actividad para celulasa, amilasa, lipasa, proteasa y ligninasa, respectivamente. Los rangos de actividad observados fueron: para celulasa, entre $4,0 \pm 0,9$ y $7,0 \pm 1,4$; para amilasa, entre $4,0 \pm 0,01$ y $30,0 \pm 5,66$; para lipasa, variando de fluorescencia débil a fluorescencia intensa; para proteasa, entre $4,0 \pm 0,89$ y $31,0 \pm 6,01$; y para ligninasa, de actividad baja (+) a alta (+++), demostrando así su potencial para aplicaciones biotecnológicas. Los resultados mostraron la relevancia de los hongos provenientes del continente antártico como fuentes renovables y sostenibles de enzimas, especialmente en procesos que requieren estabilidad en condiciones adversas. El presente estudio contribuye a la valorización de los recursos microbiológicos polares y amplía el conocimiento sobre las potencialidades biotecnológicas de los organismos de ambientes extremos.

Palabras clave: amilasa; celulasa; enzimas hidrolíticas; enzimas ligninolíticas; lipasa; producción enzimática; proteasa.

ABSTRACT

Microbial biotechnology has played a central role in the discovery and application of high-value industrial enzymes, particularly those capable of functioning under extreme conditions. In this context, fungi isolated from Antarctic samples show great potential as a source of biocatalysts due to their adaptive capacity to environments with low temperatures, high UV radiation, and nutrient scarcity. This study aimed to investigate the production of the hydrolytic enzymes cellulase, amylase, lipase, protease, and ligninases by different Antarctic fungal isolates, with a view to applying these enzymes in the food, environmental, energy, and bioprocessing sectors, among others. The strains were cultivated in specific media, with formulations optimized to induce enzymatic expression. Cellulolytic activity was verified through the hydrolysis of carboxymethylcellulose and staining with Congo red; amylolytic activity was detected using an iodine solution in culture medium containing starch; lipolytic activity was evaluated by the formation of fluorescent halos under UV light in medium containing olive oil and rhodamine B; and proteolytic activity was evidenced by clear zones in skim milk medium. For ligninase screening, guaiacol was used as an indicator of the activity of these enzymes and other phenolic oxidases. The formation of halos or color changes around the fungal colonies was considered indicative of enzymatic production. The experiments were performed in triplicate to ensure data reliability. Of the 15 isolates evaluated, 3, 10, 6, 11, and 6 showed activity for cellulase, amylase, lipase, protease, and ligninase, respectively. The observed activity ranges were: for cellulase, between 4.0 ± 0.9 and 7.0 ± 1.4 ; for amylase, between 4.0 ± 0.01 and 30.0 ± 5.66 ; for lipase, ranging from weak fluorescence to strong fluorescence; for protease, between 4.0 ± 0.89 and 31.0 ± 6.01 ; and for ligninase, from low activity (+) to high activity (+++), thus demonstrating their potential for biotechnological applications.

The results highlighted the relevance of fungi from the Antarctic continent as renewable and sustainable sources of enzymes, especially in processes that require stability under adverse conditions. This study contributes to the valorization of polar microbiological resources and expands knowledge on the biotechnological potential of organisms from extreme environments.

Keywords: amylase; biotechnology; cellulase; hydrolytic enzymes; ligninases; antarctic fungi; lipase; protease.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Mapa da Antártica destacando o Círculo Polar Antártico em linha tracejada e áreas livres de gelo em marrom.	14
Figura 2 - Formação rochosa exposta após colapso de plataformas de gelo na Antártica (1989–2022).	16
Figura 3 - Panorama geral das aplicações de algumas enzimas de interesse industrial incluindo hidrolases, agarase, celulase, amilase, esterase, lipase, protease e quitinase. Os quadros indicam os diferentes setores industriais e os asteriscos coloridos indicam qual a respectiva enzima utilizada na aplicação apresentada	22
Figura 4 - Dendrograma ilustrando a diversidade e composição das comunidades fúngicas em nove locais distintos, tanto na geleira Walker quanto em sua área de recuo.	24
Figura 5 – Coleta de amostras. À esquerda: localização da Ilha Deception com destaque para o ponto de coleta (sinalizado em amarelo). À direita: solo coletado da Baía dos Baleeiros, armazenado em recipiente de ferro.	27
Figura 6 – Fotografia dos 15 isolados fúngicos utilizados no estudo.	32
Figura 7 – Fotografias dos halos de descoloração, indicativos de atividade enzimática celulolítica (presente ou ausente), observados nos isolados após coloração com vermelho do Congo.	33
Figura 8 – Fotografias dos halos de clareamento indicativos de atividade enzimática amilolítica (presente ou ausente), observados nos isolados após adição da solução de iodo.	34
Figura 9 – Fotografias dos halos fluorescentes indicativos de atividade lipolítica em isolados (da esquerda para a direita) sob luz UV.	36
Figura 10 – Fotografias dos halos transparentes indicativos de atividade proteolítica, observados nos isolados após incubação em meio adequado.	38
Figura 11 – Fotografias dos halos acastanhados indicativos de atividade ligninolítica observados nos isolados após crescimento em meio suplementado com guaiacol	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Atividade celulolítica dos fungos testados em meio carboximetilcelulose.	33
Tabela 2 – Atividade amilolítica dos fungos isolados em meio contendo amido.	35
Tabela 3 - Atividade lipolítica dos fungos isolados em meio contendo rodamina.	36
Tabela 4 - Atividade proteolítica dos fungos isolados em meio específico para protease	38
Tabela 5 – Intensidade da coloração observada em cada isolado, em meio contendo guaiacol classificando a atividade ligninolítica como positiva ou negativa.	40
Tabela 6 - Perfil das atividades enzimáticas (amilase, celulase, lipase, protease e ligninase) dos isolados fúngicos provenientes de amostras antárticas	41

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Classificação de microrganismos extremófilos segundo o fator ambiental extremo	17
Quadro 2 – Principais extremófilos e enzimas produzidas com suas aplicações industriais.	19

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1. CONTEXTO AMBIENTAL DA ANTÁRTICA: ECOSSISTEMAS, CLIMA E SOLO.	14
2.2. MICRORGANISMOS EXTREMÓFILOS	17
2.3. FUNGOS PSICRÓFILOS: ADAPTAÇÕES MOLECULARES E POTENCIALIDADES BIOTECNOLÓGICAS	18
2.4. ENZIMAS PRODUZIDAS POR FUNGOS ISOLADOS DA ANTÁRTICA	20
2.5. DESAFIOS BIOTECNOLÓGICOS NA EXPLORAÇÃO DE FUNGOS ISOLADOS DE AMBIENTES FRIOS	23
3 OBJETIVOS	26
3.1. OBJETIVO GERAL	26
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
4 METODOLOGIA	27
4.1. CRESCIMENTO DOS FUNGOS PRESERVADOS	27
4.2. PRODUÇÃO DE CELULASE	28
4.3. PRODUÇÃO DE AMILASE	28
4.4. PRODUÇÃO DE LIPASE	29
4.5. PRODUÇÃO DE PROTEASE	29
4.6. PRODUÇÃO DE ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS	29
5 RESULTADOS	32
5.1. CRESCIMENTO DOS FUNGOS PRESERVADOS	32
5.2. PRODUÇÃO DE CELULASE	32
5.3. PRODUÇÃO DE AMILASE	34
5.4. PRODUÇÃO DE LIPASE	35
5.5. PRODUÇÃO DE PROTEASE	37
5.6. PRODUÇÃO DE ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS	39
6 DISCUSSÃO	43
7 CONCLUSÃO	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

1 INTRODUÇÃO

A prospecção de enzimas por meio da biotecnologia microbiana tem se consolidado como uma estratégia eficaz para atender demandas industriais, energéticas e ambientais, devido à capacidade dos microrganismos de produzir enzimas de forma sustentável, adaptáveis a diferentes condições extremas, com alta especificidade e potencial para redução de custos e impactos ambientais. Essa abordagem permite a descoberta de novos biocatalisadores com aplicações em processos mais limpos e eficientes, contribuindo para a inovação tecnológica e para o desenvolvimento de soluções alinhadas à bioeconomia. Dentro desses microrganismos, os fungos psicrófilicos, os quais se ajustam eficientemente a baixas temperaturas, apresentam características únicas que os tornam excelentes fontes de biomoléculas funcionais em condições extremas, como baixas temperaturas, radiação intensa e escassez de nutrientes (BUZZINI et al., 2012).

Estudos destacam a Antártica, um ambiente caracterizado por baixas temperaturas, alta radiação UV e escassez de nutrientes, como um ecossistema rico em biodiversidade fúngica adaptada a esses desafios. Jodłowska & Białkowska (2024) e Barros Cavalcante et al. (2023) apontam que fungos provenientes desse ambiente produzem pigmentos e hidrolases com propriedades únicas. Além disso, Duarte et al. (2018) observam que fungos de ambientes terrestres e marinhos da Antártica sintetizam uma variedade de enzimas em baixas temperaturas, incluindo amilase, celulase, lipase, protease e lacases, apresentando ampla faixa de pH e temperatura, além de rendimento expressivo.

Zucconi et al. (2020) reforçam o potencial da prospecção enzimática de fungos, destacando metodologias de cultivo e triagem em condições frias, uma vez que esses ambientes permitem explorar a capacidade única dos microrganismos antárticos de produzir enzimas ativas em baixas temperaturas. Essas enzimas, conhecidas como *cold-active enzymes*, mantêm alta eficiência catalítica mesmo em temperaturas reduzidas, possibilitando processos industriais mais econômicos, preservando compostos sensíveis ao calor e ampliando a aplicabilidade industrial e ambiental, incluindo bioenergia, processamento de alimentos, tratamento de resíduos e biorremediação, especialmente em regiões frias.

A exploração desses recursos ainda enfrenta desafios técnicos, incluindo cultivo em laboratório, baixa produtividade e necessidade de meios específicos adaptados ao frio. Essas limitações implicam que a produção de biomassa e de enzimas em larga escala pode ser lenta e custosa, exigindo estratégias experimentais cuidadosas para simular adequadamente o ambiente natural dos fungos. Além disso, a legislação Antártica impõe cuidados ambientais rigorosos, com diretrizes estabelecidas pelo Protocolo de Madri, que incluem avaliações de impacto ambiental, gestão de resíduos e proteção de áreas específicas (ASOC, 2017). Como consequência, a coleta e o estudo desses organismos são limitados e altamente regulados, restringindo o acesso a certas áreas, controlando o volume de amostras e aumentando a complexidade do planejamento de pesquisas biotecnológicas, o que impacta diretamente a escalabilidade e aplicabilidade industrial dessas enzimas.

Tendo em vista essas particularidades, o presente estudo avaliou a capacidade de produção de enzimas extracelulares, isto é, biocatalisadores liberados para o meio pelo microrganismo e capazes de atuar fora da célula, adaptadas ao frio, por fungos filamentosos isolados da Antártica. Foram realizados testes qualitativos para amilase, lipase, protease, celulase e ligninases, empregando meios e indicadores específicos, os quais evidenciaram a habilidade desses fungos de produzir enzimas funcionais em baixas temperaturas, com potencial para aplicações sustentáveis em processos biotecnológicos, incluindo setores alimentícios, ambientais e energéticos.

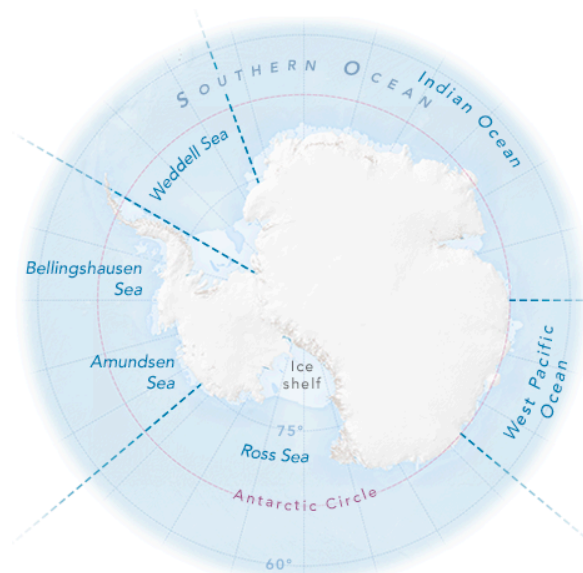
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A biotecnologia microbiana tem se destacado na busca por novas enzimas e metabólitos com aplicações industriais e farmacêuticas. Microrganismos extremófilos, como os fungos isolados da Antártica, têm despertado interesse devido à sua capacidade de produzir biocatalisadores e compostos bioativos estáveis em condições adversas (CAMACHO *et al.*, 2024).

2.1. CONTEXTO AMBIENTAL DA ANTÁRTICA: ECOSSISTEMAS, CLIMA E SOLO

A Antártica, amplamente reconhecida por ser o continente mais extremo do planeta, se encontra situada ao sul do Círculo Polar Antártico (Figura 1). As condições ambientais severas como temperaturas que podem atingir -89°C , radiação ultravioleta intensa, escassez de água líquida e baixos níveis de nutrientes, moldam fortemente os ecossistemas locais, impondo desafios significativos à vida microbiana (SILVA *et al.*, 2018; FISHER, 2014)

Figura 1 - Mapa da Antártica destacando o Círculo Polar Antártico em linha tracejada e áreas livres de gelo em marrom.



Fonte: NASA EARTH OBSERVATORY (2016).

Apesar de somente cerca de 0,5% da superfície Antártica estar livre de gelo, são justamente essas áreas as que possuem uma variedade notável de solos

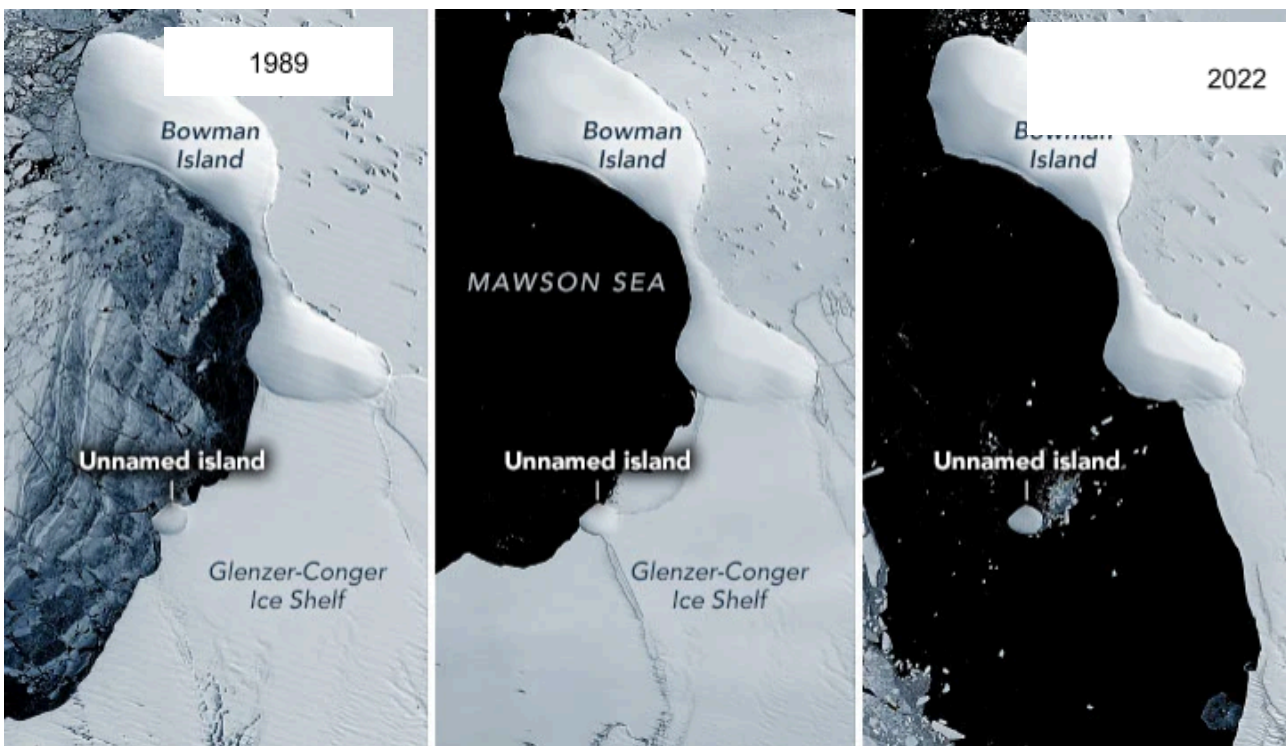
resultantes da diversidade geológica, da história glacial e das variações topográficas. Esses solos são frequentemente antigos, tendo milhões de anos, porém eles estão mal desenvolvidos e extremamente secos. O *permafrost*, que é o nome para o solo permanentemente congelado, pode ocorrer mesmo sem a presença de gelo visível, formando camadas frias e soltas a temperaturas de até -30° . Esses processos são exacerbados pela baixa precipitação (< 50 mm/ano) e pela sublimação direta do gelo, que concentra sais em camadas superficiais (ROYLES *et al.*, 2013). Em regiões como os Vales Secos de McMurdo, a condutividade elétrica do solo pode superar 5 dS/m, classificando-os como solos hipersalinos (FISHER, 2014).

Apesar das distintas condições inóspitas, como baixas temperaturas, radiação UV intensa, ventos fortes e baixa disponibilidade de água e nutrientes, os solos antárticos abrigam uma diversidade microbiana significativa. Essas condições criam microambientes específicos, como solos *permafrost*, camadas subsuperficiais e fendas em rochas translúcidas (hipólitos e endólitos), que selecionam microrganismos com adaptações fisiológicas e metabólicas únicas, incluindo a produção de pigmentos protetores, esporulação e síntese de enzimas ativas em baixas temperaturas. Entre os *variados* microrganismos encontrados destacam-se bactérias do filo Actinobacteriota, como *Streptomyces*, *Micromonospora* e *Nocardia*, além de representantes dos filos Firmicutes, Bacteroidota e Proteobacteria. Espécies como *Streptomyces hypolithicus*, isolada de comunidades hipolíticas, e *Deinococcus frigans*, uma bactéria psicrófila resistente a baixas temperaturas e radiação UV, exemplificam a diversidade adaptativa desses ecossistemas. Esses microrganismos colonizam os nichos protegidos de forma diferenciada, desempenhando papéis essenciais nos ciclos biogeoquímicos, como fixação de nitrogênio, degradação de polímeros naturais e reciclagem de nutrientes, contribuindo para a manutenção da funcionalidade ecológica e apresentando potencial para aplicações biotecnológicas (COWAN *et al.*, 2014).

Nos últimos anos, a Península Antártica tem experimentado um aquecimento acelerado, com temperaturas médias anuais aumentando significativamente desde 1957, em ritmo estimado de aproximadamente $0,12^{\circ}\text{C}$ por década, representando um aumento total de cerca de $0,5^{\circ}\text{C}$ (NASA Earth Observatory, 2016). Esse aquecimento tem resultado em maior derretimento de gelo, exposição de novas áreas de solo e expansão da vegetação, alterando os ecossistemas locais. Estudos recentes indicam que a atividade microbiana em bancos de turfa e o crescimento de musgos têm aumentado

significativamente, associando diretamente o aquecimento climático à intensificação da biomassa vegetal e à maior atividade microbiana no solo. Esses fenômenos refletem a rápida resposta do ecossistema antártico às mudanças climáticas, evidenciando a sensibilidade da Península Antártica a variações de temperatura e destacando a importância de monitoramento contínuo para avaliar os impactos ecológicos e biotecnológicos desses ambientes (STEIG et al., 2009). Figura 2 representa um exemplo de degelo no continente.

Figura 2 - Formação rochosa exposta após colapso de plataformas de gelo na Antártica (1989–2022).



Fonte: PLANETA (2022).

A suposta ilha, em fotos obtidas entre novembro de 1989 e janeiro de 2022. Crédito: Nasa Earth Observatory/Joshua Stevens, com dados do Landsat do US Geological Survey e do ICESat-2 do National Snow & Ice Center.

Nesse sentido, a Antártica representa um reservatório de diversidade microbiana ainda pouco explorado, incluindo microrganismos extremófilos adaptados a condições de frio extremo, radiação intensa e escassez de nutrientes, e atua como um sistema-sentinela para monitorar os efeitos do aquecimento global sobre ecossistemas frágeis. Sua singularidade biológica e ambiental confere grande potencial para pesquisas em bioprospecção de compostos com aplicações farmacêuticas e industriais (SILVA et al., 2018; COWAN et al., 2014).

2.2. MICRORGANISMOS EXTREMÓFILOS

Microrganismos extremófilos são aqueles capazes de sobreviver e se proliferar em condições ambientais extremas, como temperaturas elevadas ou baixas, pH muito ácido ou alcalino, alta salinidade, alta pressão e radiação intensa. Suas adaptações fisiológicas e bioquímicas os tornam relevantes para diversas aplicações biotecnológicas, especialmente na produção de enzimas industriais, biopolímeros e compostos bioativos (QUILLAGUAMAN et al., 2004; CAMACHO *et al.*, 2024; LOPES *et al.*, 2023). O Quadro 1 apresenta uma síntese da classificação dos principais tipos de extremófilos segundo o fator ambiental extremo ao qual estão adaptados, exemplificando seus habitats típicos e referências correspondentes.

Quadro 1 – Classificação de microrganismos extremófilos segundo o fator ambiental extremo

Tipo de extremófilo	Condição ambiental	Exemplo de hábitat
Termófilos	50–80 °C	Fontes hidrotermais, compostos geotérmicos
Hipertermófilos	>80 °C	Fontes hidrotermais, compostos geotérmicos
Psicrófilos	<15 °C	Ambientes polares, marinhos profundos
Halófilos	Alta salinidade	Lagos hipersalinos, solos alcalinos
Acidófilos	pH <3	Drenagem ácida de minas
Alcalófilos	pH >9	Solos alcalinos
Barófilos/Piezófilos	Alta pressão	Fossas oceânicas profundas
Radiotolerantes	Altos níveis de radiação ionizante	Locais com contaminação radioativa

Fonte: Adaptado pela autora a partir de QUILLAGUAMAN et al., 2004; CAMACHO et al., 2024; LOPES et al., 2023.

A produção de enzimas por microrganismos extremófilos tem sido

investigada devido à sua capacidade de operar em condições ambientais extremas, como altas temperaturas, alta salinidade e pH extremo. Essas enzimas, chamadas extremozimas, possuem propriedades únicas de estabilidade e atividade, o que as torna valiosas para diversas aplicações biotecnológicas, incluindo processos industriais e farmacêuticos (CAMACHO *et al.*, 2024).

2.3. FUNGOS PSICRÓFILOS: ADAPTAÇÕES MOLECULARES E POTENCIALIDADES BIOTECNOLÓGICAS

Os fungos psicrófilos são organismos eucarióticos adaptados a ambientes permanentemente frios, como os encontrados nas regiões polares, especialmente na Antártica. Nestes ambientes, que incluem solos expostos, musgos, além de sedimentos marinhos e lacustres, já foram identificadas diversas espécies fúngicas. (ZHANG *et al.*, 2022). Esses organismos desenvolveram mecanismos moleculares altamente especializados que garantem sua sobrevivência em temperaturas próximas ou inferiores a 0 °C. Dentre essas adaptações, destacam-se alterações na composição da membrana plasmática, como o aumento de ácidos graxos insaturados e a produção de proteínas anticongelantes (AFPs), chaperonas moleculares, enzimas frias e pigmentos fotoprotetores (FELLER, 2013; BUZZINI *et al.*, 2012).

Enzimas como amilases, proteases, lipases e quitinases exibem atividade catalítica eficiente em baixas temperaturas e são altamente termo sensíveis, o que representa uma vantagem em processos industriais que requerem economia de energia ou condições delicadas de processamento (RAMLI *et al.*, 2011; ZUCCONI *et al.*, 2020). Na indústria de alimentos, essas enzimas têm sido aplicadas na quebra de amido e proteínas em produtos refrigerados, enquanto na indústria de detergentes são empregadas pela sua eficiência em lavagens a frio (FELLER, 2013). Para organizar melhor a diversidade de extremófilos e os tipos de enzimas que produzem, os principais grupos estão resumidos no Quadro 2.

Quadro 2 – Principais extremófilos e enzimas produzidas com suas aplicações industriais

Tipo de Extremófilo	Enzimas típicas	Aplicações industriais / biotecnológicas
Psicrófilos	Amilases, proteases	Processamento de alimentos refrigerados, detergentes a frio
Termófilos / Hipertermófilos	Lipases, proteases, celulases	Pasteurização, bioenergia
Halófilos	Lipases, amilases	Biorremediação, alimentos processados
Acidófilos / Alcalófilos	Proteases, lipases	Detergentes, tratamento de efluentes
Barófilos / Piezófilos	Enzimas resistentes à pressão	Fermentações pressurizadas
Radiotolerantes	Enzimas resistentes à radiação	Biorremediação de áreas contaminadas

Fonte: Adaptado pela autora a partir de RAMLI et al., 2011; ZUCCONI et al., 2020; FELLER, 2013; QUILLAGUAMAN et al., 2004; LOPES et al., 2023.

Outra frente promissora é a bioprospecção de compostos bioativos produzidos por esses fungos em ambientes polares extremos. Estudos apontam para a capacidade destes microrganismos de sintetizar metabólitos com atividades antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes e até antitumorais (ZHANG *et al.*, 2022; JODŁOWSKA; BIAŁKOWSKA, 2024). Tais compostos podem ter papel fundamental no desenvolvimento de novos fármacos, especialmente frente ao aumento da resistência microbiana. Além disso, os fungos psicrófilos também se destacam em aplicações ambientais, como a biorremediação de áreas contaminadas por hidrocarbonetos e metais pesados em regiões frias, devido à sua habilidade de metabolizar compostos complexos mesmo em baixas temperaturas (MARGESIN; MITEVA, 2010). Portanto, a combinação de suas adaptações moleculares únicas e a capacidade de produzir uma variedade de

biomoléculas funcionais torna os fungos psicrófilos uma fonte estratégica para aplicações nas indústrias alimentícia, farmacêutica, ambiental e de biotecnologia industrial.

2.4. ENZIMAS PRODUZIDAS POR FUNGOS ISOLADOS DA ANTÁRTICA

Fungos psicrófilos isolados da Antártica produzem enzimas extracelulares "*cold-active*", que mantêm alta atividade catalítica em baixas temperaturas, característica essencial para a sobrevivência desses organismos em ambientes permanentemente frios. Estudos recentes indicam que esses microrganismos têm um grande potencial para a produção de enzimas com aplicações específicas em bioprocessos industriais (LOPES *et al.*, 2023; CAMACHO *et al.*, 2024). Dentre os tipos de enzimas podem ser destacadas:

As celulasas são enzimas responsáveis pela degradação da celulose, catalisando a quebra das ligações glicosídicas entre as unidades de glicose. Essas enzimas são produzidas por diversos microrganismos, como *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Penicillium* e *Humicola*. As celulasas psicrófilas apresentam elevada eficiência catalítica em condições de baixas temperaturas, próximas a 0 °C, e em pH ácido, características que ampliam seu potencial de aplicação em processos industriais que demandam economia de energia. Uma das principais utilizações dessas enzimas está na produção de biocombustíveis a partir de biomassa lignocelulósica, na qual a celulose é convertida em açúcares fermentescíveis. O processo pode ocorrer por meio de hidrólise sequencial ou simultânea da celulose e hemicelulose, seguida da fermentação alcoólica dos açúcares liberados (como glicose, xilose e arabinose) por microrganismos fermentadores, como leveduras e bactérias, resultando na produção de etanol e outros biocombustíveis (CASTRO, 2010; ZUCCONI *et al.*, 2020).

A amilase, enzima que catalisa a quebra de ligações glicosídicas do amido, transformando-o em maltose e outros oligossacarídeos, é produzida por diversos organismos, incluindo animais, plantas, fungos e bactérias. As amilases psicrófilas são especialmente valorizadas por sua capacidade de atuar eficientemente em baixas temperaturas. Essa característica permite, na indústria alimentícia, a modificação do amido em processos sob refrigeração, preservando propriedades sensoriais e nutricionais dos alimentos, como textura, volume e frescor de pães e massas, além de reduzir o consumo energético e evitar danos térmicos (LIMA, 2017; ZUCCONI *et al.*, 2020). Na área farmacêutica, a flexibilidade estrutural dessas enzimas possibilita sua atuação em

diferentes condições fisiológicas, funcionando como auxiliares digestivos eficazes em faixas variadas de temperatura, ampliando seu potencial terapêutico (FELLER, 2013).

As lipases são enzimas que catalisam a hidrólise de triglicerídeos em ácidos graxos livres e glicerol. Na produção de biodiesel, as lipases psicrófilas podem catalisar a transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais em temperaturas mais baixas, reduzindo o consumo de energia e evitando a degradação térmica dos reagentes e produtos. Na indústria alimentícia, essas enzimas são empregadas para modificar lipídios em alimentos refrigerados, aprimorando textura, sabor e propriedades nutricionais sem a necessidade de aquecimento. Outro campo promissor é a síntese de ésteres em processos químicos mais sustentáveis, onde sua atividade em frio permite maior controle das reações. Além disso, as lipases psicrófilas apresentam potencial em biorremediação ambiental, degradando contaminantes lipofílicos em solos e águas polares e contribuindo para a recuperação de ecossistemas afetados (MESSIAS, 2011; FELLER, 2013).

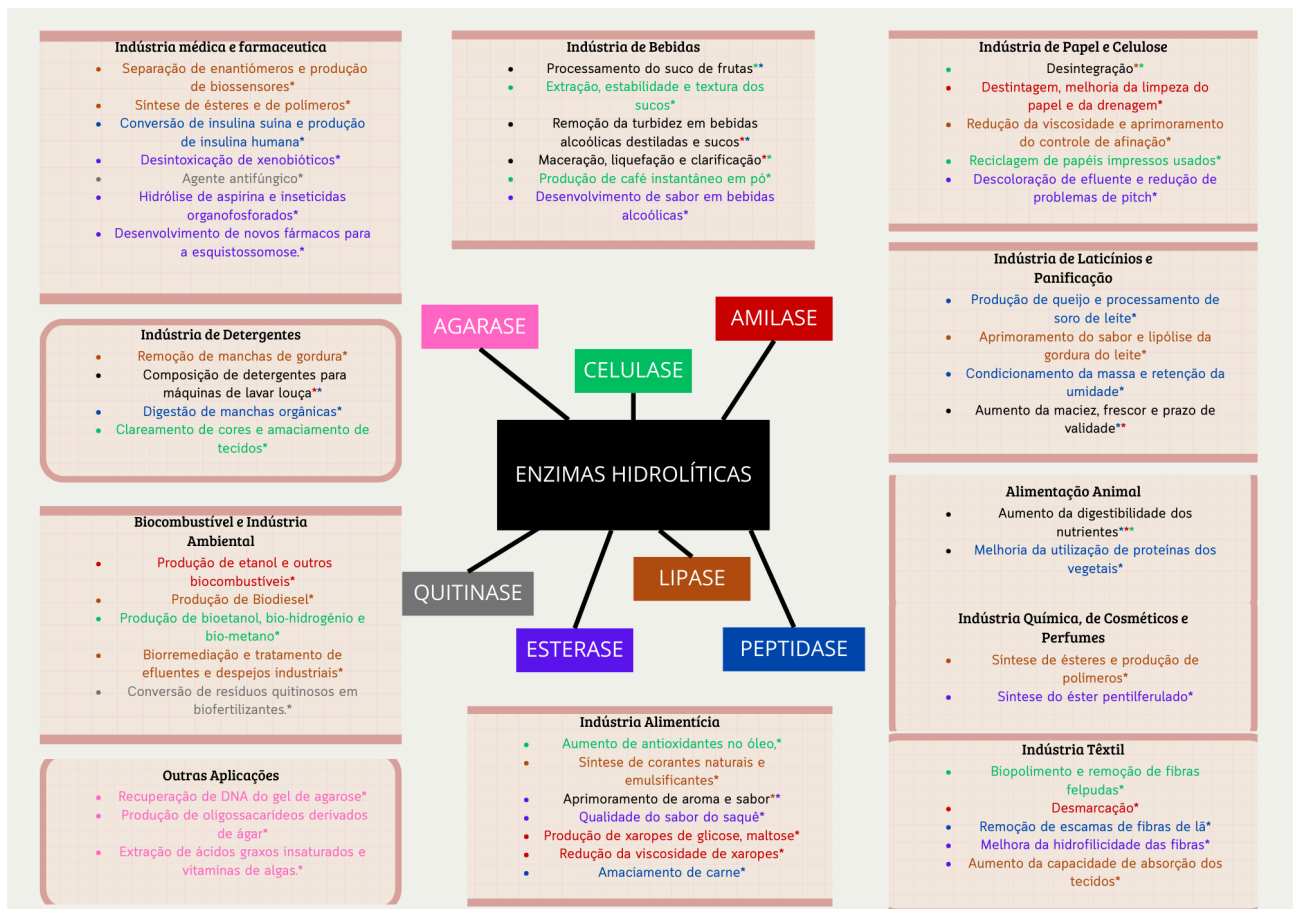
As proteases, também chamadas de peptidases, catalisam a quebra de ligações peptídicas entre aminoácidos, degradando proteínas em peptídeos menores ou aminoácidos livres. Na indústria de detergentes, essas enzimas psicrófilas permitem a remoção eficaz de manchas proteicas em lavagens a frio, reduzindo o consumo de energia elétrica e preservando tecidos delicados. Na indústria alimentícia, são utilizadas no amaciamento de carnes refrigeradas, na maturação de queijos e na produção de hidrolisados proteicos com alto valor nutricional e funcional, preservando sabores e compostos voláteis que seriam perdidos em processos térmicos intensos. Na área farmacêutica, apresentam aplicação na produção de medicamentos e suplementos enzimáticos, além de potencial na engenharia de tecidos e terapias enzimáticas que exigem atividade em condições fisiológicas brandas (GIONGO, 2006; FELLER, 2013).

As enzimas ligninolíticas compreendem um grupo de oxidoredutases responsáveis pela degradação da lignina, um biopolímero complexo e resistente presente na parede celular de plantas lenhosas. Entre as principais estão a lacase (Lcc), a lignina peroxidase (LiP) e a manganês peroxidase (MnP). Fungos antárticos têm se mostrado fontes promissoras dessas enzimas, adaptadas a ambientes frios e com baixa disponibilidade de nutrientes. Elas apresentam potencial elevado para aplicações industriais sustentáveis, como o branqueamento de papel e celulose sem uso de

compostos clorados, a biorremediação de solos contaminados por compostos aromáticos recalcitrantes e a conversão de biomassa vegetal em açúcares fermentáveis para produção de bioetanol (MELO, 2004; MARGESIN; MITEVA, 2010). Além disso, lacases psicrófilas têm sido estudadas para biossensores, síntese de fármacos e tratamentos de efluentes industriais, destacando sua versatilidade catalítica (ZUCCONI et al., 2020).

Como demonstrado na Figura 3, as enzimas psicrófilas antárticas apresentam aplicações diversificadas em setores industriais, desde alimentos até biorremediação, destacando seu potencial biotecnológico (LOPES, 2023).

Figura 3 - Panorama geral das aplicações de algumas enzimas de interesse industrial incluindo hidrolases, agarase, celulase, amilase, esterase, lipase, protease e quitinase. Os quadros indicam os diferentes setores industriais e os asteriscos coloridos indicam qual a respectiva enzima utilizada na aplicação apresentada



Fonte: LOPES, 2023. Adaptado pela autora.

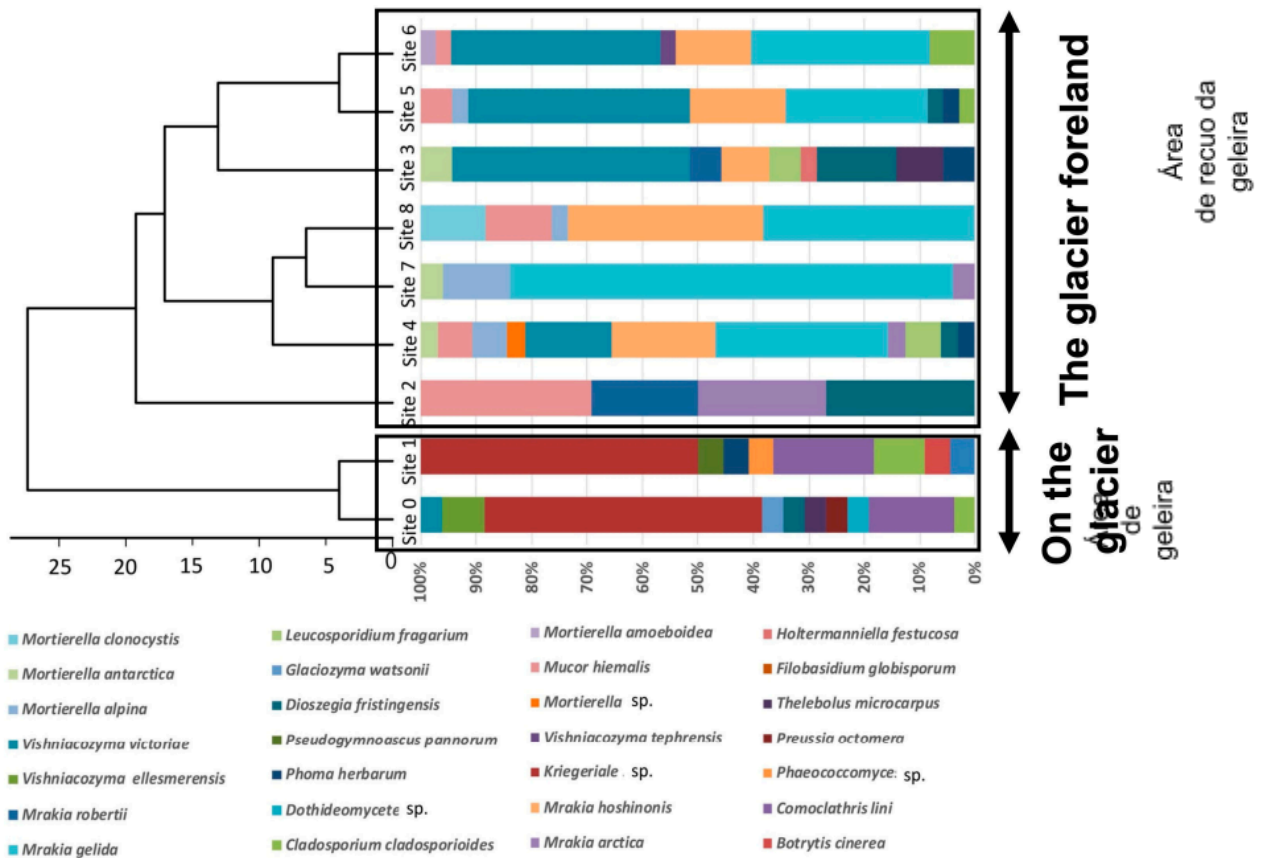
Estudos moleculares revelam que as enzimas psicrófilas apresentam

adaptações estruturais específicas, como maior flexibilidade conformacional e estabilidade térmica, que permitem a manutenção da atividade catalítica em temperaturas próximas a 0 °C, diferenciando-as das enzimas mesofílicas. Essas características são essenciais para aplicações industriais que demandam processos em baixas temperaturas, reduzindo custos energéticos e preservando compostos sensíveis (RAMLI *et al.*, 2011; FELLER, 2013).

2.5. DESAFIOS BIOTECNOLÓGICOS NA EXPLORAÇÃO DE FUNGOS ISOLADOS DE AMBIENTES FRIOS

A exploração de fungos oriundos do continente antártico para fins biotecnológicos apresenta diversos desafios que vão desde limitações técnicas até entraves legais e ambientais. Um dos principais obstáculos é o isolamento e cultivo desses microrganismos em laboratório. A complexidade de comunidades fúngicas de ambientes frios é visível no dendrograma da Figura 4, que compara nove micro-habitat distintos na geleira Walker, no Ártico (TSUJI, 2023). A figura ilustra uma diversidade diferenciada entre as amostras coletadas na área da geleira e nas áreas de recuo da geleira, mostrando a grande diversidade fúngica em ambientes frios. Muitos fungos psicrófilos da Antártica são de crescimento extremamente lento, apresentam metabolismo especializado e são recalcitrantes a meios de cultura convencionais, o que limita significativamente sua recuperação por métodos tradicionais (ZHANG *et al.*, 2022; LIU *et al.*, 2023).

Figura 4 - Dendrograma ilustrando a diversidade e composição das comunidades fúngicas em nove locais distintos, tanto na geleira Walker quanto em sua área de recuo.



Fonte: TSUJI,2023.

Além disso, grande parte da diversidade fúngica antártica permanece inacessível, sendo conhecida apenas por meio de técnicas de DNA ambiental e metagenômica, indicando a necessidade de abordagens complementares, como o uso de meios seletivos, co-cultivos e simulação de microambientes naturais para favorecer o crescimento in vitro (ZHANG *et al.*, 2022; LIU *et al.*, 2023).

Outro desafio importante é a baixa produtividade de enzimas e metabólitos bioativos por parte de muitos fungos oriundos do continente antártico. Devido à sua adaptação a ambientes extremos, esses microrganismos tendem a ter taxas metabólicas lentas, o que se traduz em baixos rendimentos em cultivos laboratoriais. Para contornar esse problema, estudos vêm utilizando tecnologias ômicas, como genômica, transcriptômica, metabolômica e proteômica, para identificar genes de interesse e otimizar sua expressão em hospedeiros heterólogos, como *Escherichia coli* e *Pichia pastoris* (CAMACHO *et al.*, 2024; DUARTE *et al.*, 2018). No entanto, essas abordagens exigem

infraestrutura avançada, investimento financeiro e expertise técnica especializada, o que limita sua adoção por muitos grupos de pesquisa.

A própria diversidade genética e metabólica dos fungos oriundos do continente antártico, embora promissora, representa um desafio adicional. A maioria das espécies permanece pouco caracterizada, e suas vias metabólicas específicas ainda são mal compreendidas. A aplicação de ferramentas de sequenciamento de nova geração e bioinformática vem sendo fundamental para superar essas barreiras, permitindo o acesso a genes codificadores de enzimas ativas ao frio e outros metabólitos de interesse industrial (BARROS CAVALCANTE *et al.*, 2023; OGAKI *et al.*, 2020).

Por fim, o desenvolvimento de bioprodutos a partir de fungos oriundos do continente antártico também requer atenção aos princípios da sustentabilidade e da ética na pesquisa. A pressão pela inovação precisa ser equilibrada com a preservação dos ecossistemas polares e o respeito às normas internacionais de acesso a recursos genéticos. Assim, embora o potencial biotecnológico desses organismos seja vasto, sua exploração exige uma abordagem integrada, que é uma ciência de ponta, responsabilidade ambiental e acordos de cooperação internacional.

3 OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Avaliar experimentalmente o potencial de produção de enzimas extracelulares adaptadas ao frio por fungos psicrófilos isolados da Antártica, com foco em aplicações biotecnológicas.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Reativar os fungos filamentosos isolados de amostras de solo e preservados em ultracongelamento.
- Cultivar os fungos psicrófilos isolados em condições controladas, incluindo baixa temperatura ($12 \pm 0,5$ °C); meios indutores específicos (amido, CMC, óleo, leite, guaiacol) —para induzir a produção de enzimas extracelulares adaptadas ao frio.
- Detectar qualitativamente, a atividade enzimática utilizando meios de cultivo para cada tipo de enzima.

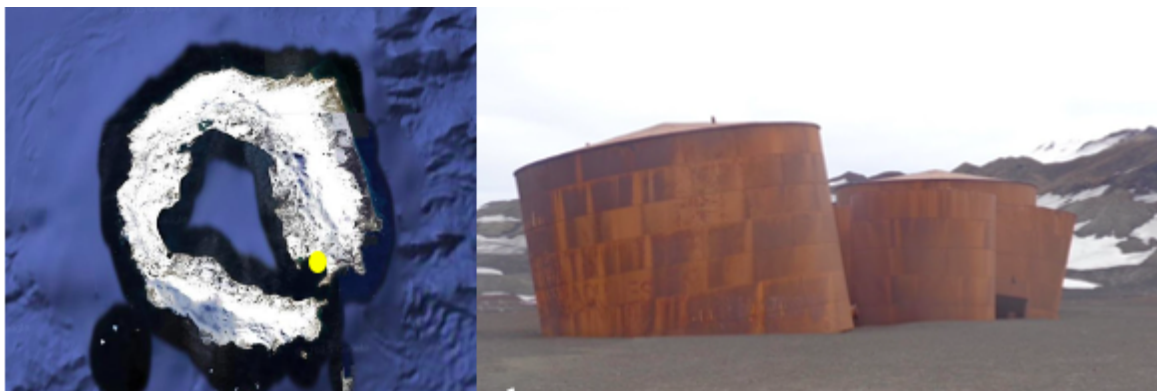
4 METODOLOGIA

4.1. CRESCIMENTO DOS FUNGOS PRESERVADOS

AMOSTRAS DE SOLO

Os fungos utilizados neste estudo foram previamente isolados a partir de amostras de solo rico em ferro, coletadas no interior de um recipiente historicamente utilizado no processamento de óleo de baleia, localizado na Baía dos Baleeiros, Ilha Deception, Antártica (coordenadas: 62° 58'43,1" S; 60° 33'33,9" O) (Figura 5). A coleta foi realizada durante a operação científica brasileira OPERANTAR XLI, no verão austral de 2022/2023.

Figura 5 – Coleta de amostras. À esquerda: localização da Ilha Deception com destaque para o ponto de coleta (sinalizado em amarelo). À direita: solo coletado da Baía dos Baleeiros, armazenado em recipiente de ferro.



Fonte: GOOGLE EARTH, 2025; PASSARINI, 2023.

REATIVAÇÃO DOS ISOLADOS FÚNGICOS

Os isolados fúngicos foram previamente preservados em tubos contendo Ágar Batata Dextrose (BDA) inclinado, mantidos sob refrigeração a 4 °C. Para a reativação, foram cultivados em meio sólido BDA (Kasvi®, Brasil), composto por glucose 10 g L⁻¹, ágar 15 g L⁻¹ e infusão de batata 200 g L⁻¹. Sob condições assépticas, os isolados foram transferidos diretamente dos tubos de preservação para o centro das placas de BDA utilizando alça de inoculação estéril. As placas foram incubadas a 12 °C, em câmara fria, por até 7 dias, até o desenvolvimento visível das colônias (ATLAS, 2010;

POINTING, 1999).

Após o crescimento, as colônias fúngicas foram avaliadas quanto ao aspecto morfológico (textura cotonosa ou filamentosa, presença de micélio aéreo e coloração típica), velocidade de crescimento e contaminações. Isolados com crescimento vigoroso e características morfológicas compatíveis com fungos filamentosos foram selecionados para as análises enzimáticas subsequentes (POINTING, 1999; FULZELE *et al.*, 2011).

4.2 PRODUÇÃO DE CELULASE

A avaliação qualitativa da produção de celulase foi realizada conforme Teather & Wood (1982), com modificações. Os isolados foram cultivados em meio de cultura contendo: 0,2 g L⁻¹ de sulfato de magnésio, 0,02 g L⁻¹ de cloreto de cálcio, 1 g L⁻¹ de fosfato monobásico de potássio, 1 g L⁻¹ de fosfato dibásico de potássio, 0,5 g L⁻¹ de sulfato de amônio, 0,5 g L⁻¹ de nitrato de sódio, 0,5% de carboximetilcelulose (CMC), 0,6 g L⁻¹ de extrato de levedura e 15 g L⁻¹ de ágar. Os fungos isolados da Antártica foram incubados a 12 °C por 5 dias. Após 3 dias de crescimento, foram adicionados 5 mL de corante vermelho do Congo a 2,5 g L⁻¹ ao meio de cultura contendo as amostras. Após 15 minutos, as placas foram lavadas com NaCl 1 M. Os experimentos foram realizados em triplicata. A formação de um halo de descoloração ao redor das colônias foi considerada um resultado positivo para atividade celulolítica (BERNAL,2021).

4.3 PRODUÇÃO DE AMILASE

A triagem para atividade amilolítica foi realizada segundo o método modificado proposto por Anduaem (2014). Os fungos isolados da Antártica foram cultivados em meio SBDA (Ágar Amido Batata Dextrose), composto por 1% de amido solúvel, 5 g L⁻¹ de glicose e 15 g L⁻¹ de ágar, preparado em infusão de batata. Discos de micélio com 0,5 cm de diâmetro foram inoculados nas placas contendo o meio SPDA e incubados a 12 °C por 7 dias. Após esse período, foi adicionada à superfície do meio de cultura uma solução composta por 1% de iodo em 2% de iodeto de potássio. A formação

de um halo de clareamento ao redor das colônias foi considerada indicativa de hidrólise do amido e, portanto, de atividade positiva de amilase. Os experimentos foram realizados em triplicata (BERNAL,2021).

4.4 PRODUÇÃO DE LIPASE

Os fungos isolados da Antártica foram cultivados em meio Agar Batata Dextrose com Rodamina (RO-BDA), conforme descrito por Kumar *et al.* (2012). A solução RO foi preparada com 31,25 mL de óleo de oliva e 10 mL de Rodamina B (1,0 mg mL⁻¹), misturados sob agitação vigorosa. Discos de micélio com 0,5 cm de diâmetro foram inoculados nas placas contendo o meio RO-BDA, que foram incubadas por 7 dias a 12 °C. A produção da enzima lipase foi confirmada após sua exposição das placas à luz UV, sendo considerada positiva a formação de halos fluorescentes ao redor das colônias, indicando a hidrólise do óleo presente no meio de cultura (ABU-RUWAIDA, 1991). Os experimentos foram realizados em triplicata (BERNAL, 2021).

4.5 PRODUÇÃO DE PROTEASE

Para realizar a triagem preliminar dos isolados produtores de protease, os 15 fungos isolados da Antártica foram cultivados em placas de Petri contendo meio de cultura à base de Agar Batata Dextrose — BDA (10 g L⁻¹ de glicose, 15 g L⁻¹ de ágar em 1000 mL de infusão de batata), suplementado com 10% de leite desnatado. As placas foram incubadas a 12 °C por 7 dias. A formação de halos transparentes ao redor das colônias foi considerada como evidência positiva de atividade proteolítica (FULZELE *et al.*, 2011; BERNAL,2021).

4.6 PRODUÇÃO DE ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS

Para a avaliação da produção de enzimas ligninolíticas, os fungos oriundos do continente antártico foram cultivados em meio PDA conforme descrito anteriormente, com adição de 425 µL de guaiacol a 99%, utilizado como indicador da presença de fenol oxidases. Discos de 0,5 cm de diâmetro, obtidos das margens das

colônias, foram inoculados nas placas de PDA e incubados por 7 dias a 12 °C. A formação de uma coloração acastanhada ao redor do micélio fúngico foi considerada como resultado positivo para a atividade ligninolítica. Os experimentos foram realizados em triplicata (BERNAL,2021).

Nota metodológica sobre tratamento estatístico:

As análises foram realizadas em triplicata, e os diâmetros dos halos enzimáticos foram expressos como média \pm desvio padrão, de modo a indicar a reprodutibilidade dos resultados. Usando as seguintes fórmulas:

Média

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Onde:

- x_i = cada valor individual medido (por exemplo, diâmetro do halo em mm);
- n = número de replicatas.

Desvio padrão

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Onde:

- x_i = cada valor individual
- \bar{x} = média dos valores
- n = número de replicatas

Por se tratar de uma triagem preliminar com número limitado de amostras, não foram aplicados testes estatísticos inferenciais para comparação entre os isolados. Estudos futuros poderão incorporar análises quantitativas mais detalhadas, incluindo

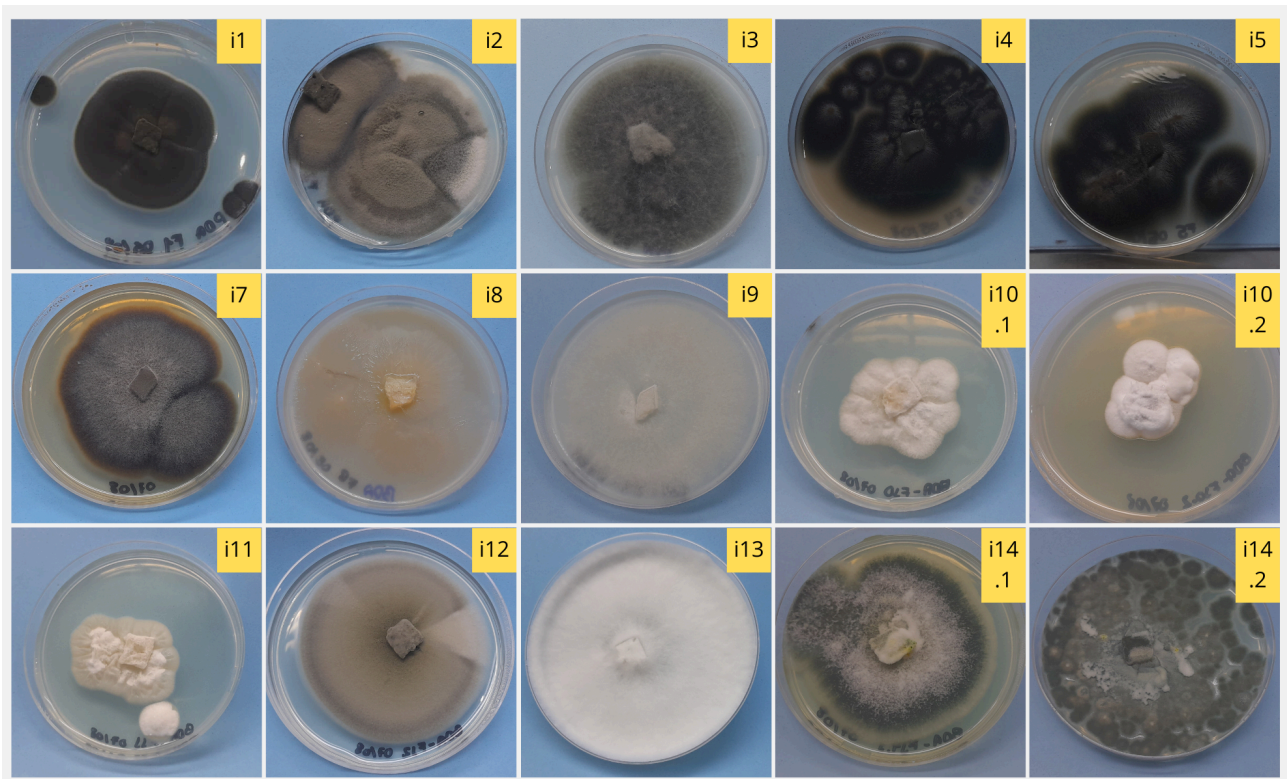
determinação de parâmetros cinéticos detalhados das enzimas, com aplicação de testes estatísticos apropriados para comparação de rendimento e estabilidade enzimática.

5 RESULTADOS

5.1 CRESCIMENTO DOS FUNGOS PRESERVADOS

Os 15 isolados fúngicos apresentaram crescimento satisfatório, sem ocorrência de contaminações. Assim como apresentado na Figura 6, todas as colônias exibiram morfologia típica de fungos filamentosos, o que possibilitou a seleção de todos os isolados para as análises enzimáticas subsequentes.

Figura 6 – Fotografia dos 15 isolados fúngicos utilizados no estudo (I indica cada isolado).



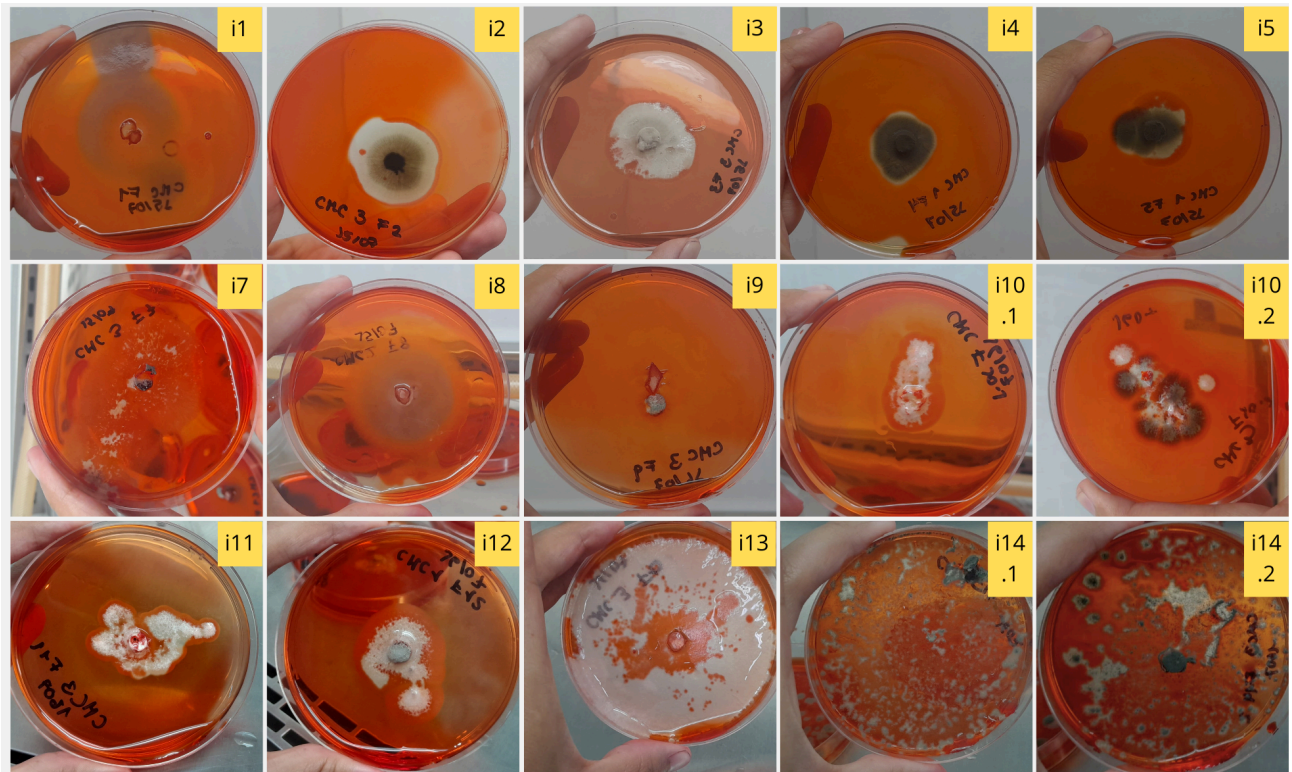
Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5.2 PRODUÇÃO DE CELULASE

A evidência da atividade celulolítica foi observada na Figura 7, na qual se verificam halos de descoloração ao redor das colônias em meio contendo carboximetilcelulose (CMC) nos isolados 2, 4 e 5. Os valores médios dos diâmetros dos halos estão apresentados na Tabela 1. Entre os 15 isolados testados, 3 apresentaram atividade positiva, com halos variando de $4,0 \pm 0,9$ mm a $7,0 \pm 1,4$ mm. Esses resultados

confirmam a capacidade de hidrólise da celulose pelo sistema enzimático produzido pelos fungos.

Figura 7 – Fotografias dos halos de descoloração, indicativos de atividade enzimática celulolítica (presente ou ausente), observados nos isolados após coloração com vermelho do Congo.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 1 - Atividade celulolítica dos fungos testados em meio carboximetilcelulose.

Isolado	Diâmetro do halo (mm) ± DP	Positivo/Negativo
Isolado 1	0	Negativo
Isolado 2	4,3 ± 0,85	Positivo
Isolado 3	0	Negativo
Isolado 4	4,0 ± 0,9	Positivo
Isolado 5	7,0 ± 1,4	Positivo
Isolado 7	0	Negativo
Isolado 8	0	Negativo
Isolado 9	0	Negativo

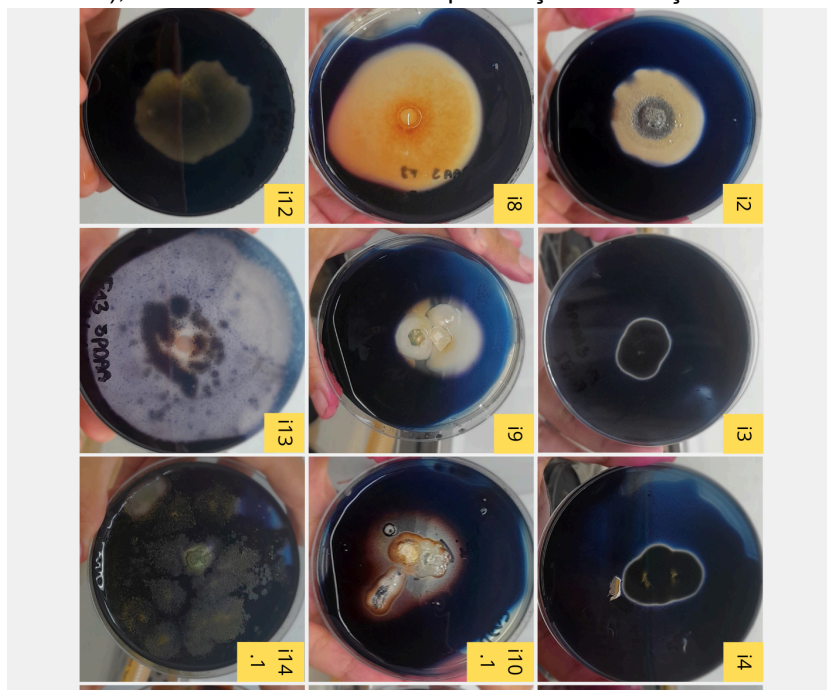
Isolado 10.1	0	Negativo
Isolado 10.2	0	Negativo
Isolado 11	0	Negativo
Isolado 12	0	Negativo
Isolado 13	-	Indeterminado
Isolado 14.1	0	Negativo
Isolado 14.2	0	Negativo

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5.3 PRODUÇÃO DE AMILASE

A evidência da atividade amilolítica foi observada na Figura 8, na qual se verificam halos de clareamento ao redor das colônias após adição da solução de iodo. Os valores médios dos diâmetros dos halos estão apresentados na Tabela 2. Entre os 15 isolados testados, 11 apresentaram atividade positiva, com halos variando de $4,0 \pm 0,01$ mm a $30,0 \pm 5,66$. Esses resultados confirmam a produção de amilase e indicam diferentes níveis de atividade enzimática entre os isolados.

Figura 8 – Fotografias dos halos de clareamento indicativos de atividade enzimática amilolítica (presente ou ausente), observados nos isolados após adição da solução de iodo.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 2 – Atividade amilolítica dos fungos isolados em meio contendo amido.

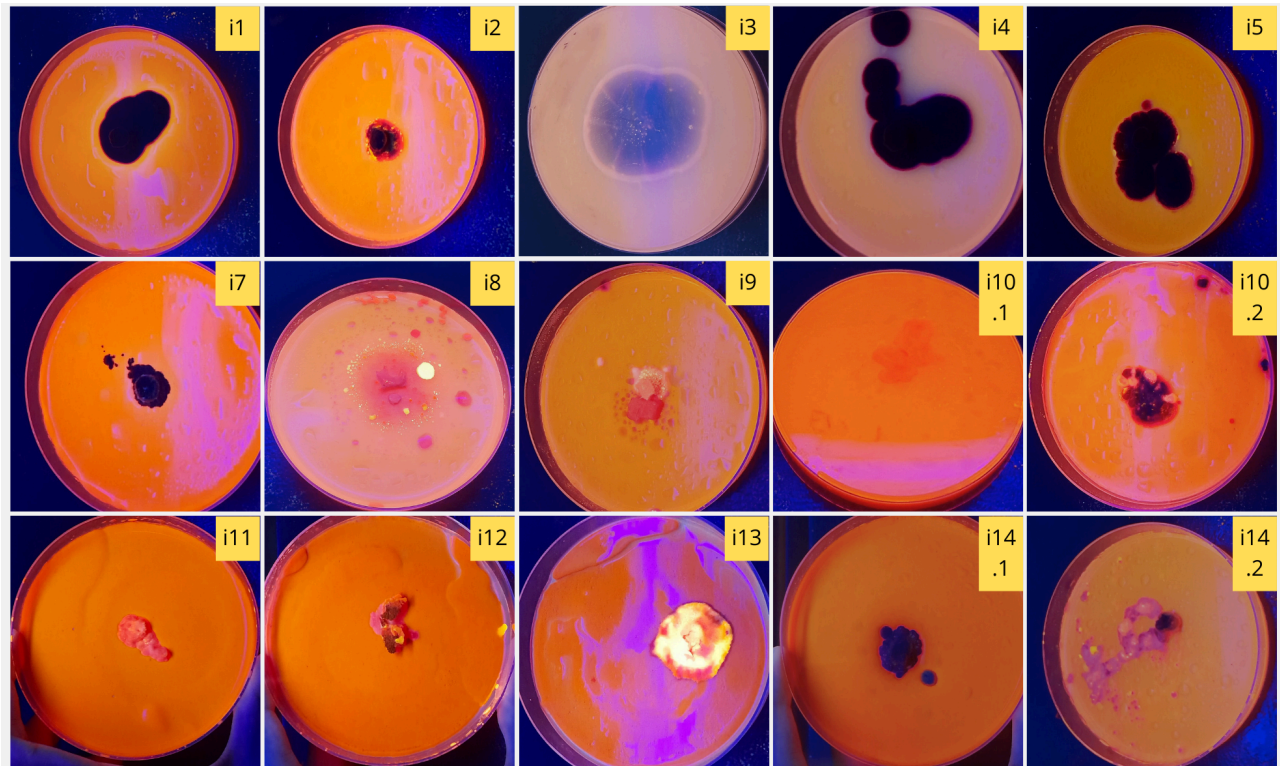
Isolado	Diâmetro do halo (mm) ± DP	Positivo/Negativo
Isolado 1	6,33 ± 1,28	Positivo
Isolado 2	5,33 ± 1,8	Positivo
Isolado 3	5,0 ± 0,01	Positivo
Isolado 4	6,33 ± 1,15	Positivo
Isolado 5	7,0 ± 1,4	Positivo
Isolado 7	0	Negativo
Isolado 8	14,0 ± 2,65	Positivo
Isolado 9	14,0 ± 2,9	Positivo
Isolado 10.1	17,67 ± 3,54	Positivo
Isolado 10.2	0	Negativo
Isolado 11	30,0 ± 5,66	Positivo
Isolado 12	4,0 ± 0,01	Positivo
Isolado 13	-	Indeterminado
Isolado 14.1	0	Negativo
Isolado 14.2	-	Indeterminado

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5.4 PRODUÇÃO DE LIPASE

A evidência da atividade lipolítica foi observada na Figura 9, na qual seis isolados apresentaram halos fluorescentes sob luz UV, sendo os isolados: 2, 3, 5, 8, 10.1, 11, 12 e 13, sugerindo a produção de lipases. Entretanto, foi identificado um erro na preparação do meio, uma vez que a concentração da rodamina foi calculada em gramas em vez de miligramas, resultando em uma concentração cerca de 1000 vezes superior à recomendada. Esse equívoco pode ter comprometido a sensibilidade do ensaio, o que torna necessária a repetição do experimento para validação dos resultados. Os dados obtidos até o momento encontram-se apresentados na Tabela 3.

Figura 9 – Fotografias dos halos fluorescentes indicativos de atividade lipolítica em isolados (da esquerda para a direita) sob luz UV.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 3 - Atividade lipolítica dos fungos isolados em meio contendo rodamina.

Isolado	Observação sob luz UV	Interpretação preliminar sobre atividade lipolítica
Isolado 1	(-) Sem fluorescência	Sem evidência de atividade lipolítica
Isolado 2	(+) Fluorescência fraca	Atividade lipolítica baixa ou ausente
Isolado 3	(++) Fluorescência moderada	Potencial atividade presente
Isolado 4	(-) Sem fluorescência	Sem evidência de atividade lipolítica
Isolado 5	(+) Fluorescência fraca	Atividade lipolítica baixa ou ausente
Isolado 7	(-) Sem fluorescência	Sem evidência de atividade lipolítica
Isolado 8	(+) Fluorescência apenas em	Possível atividade lipolítica

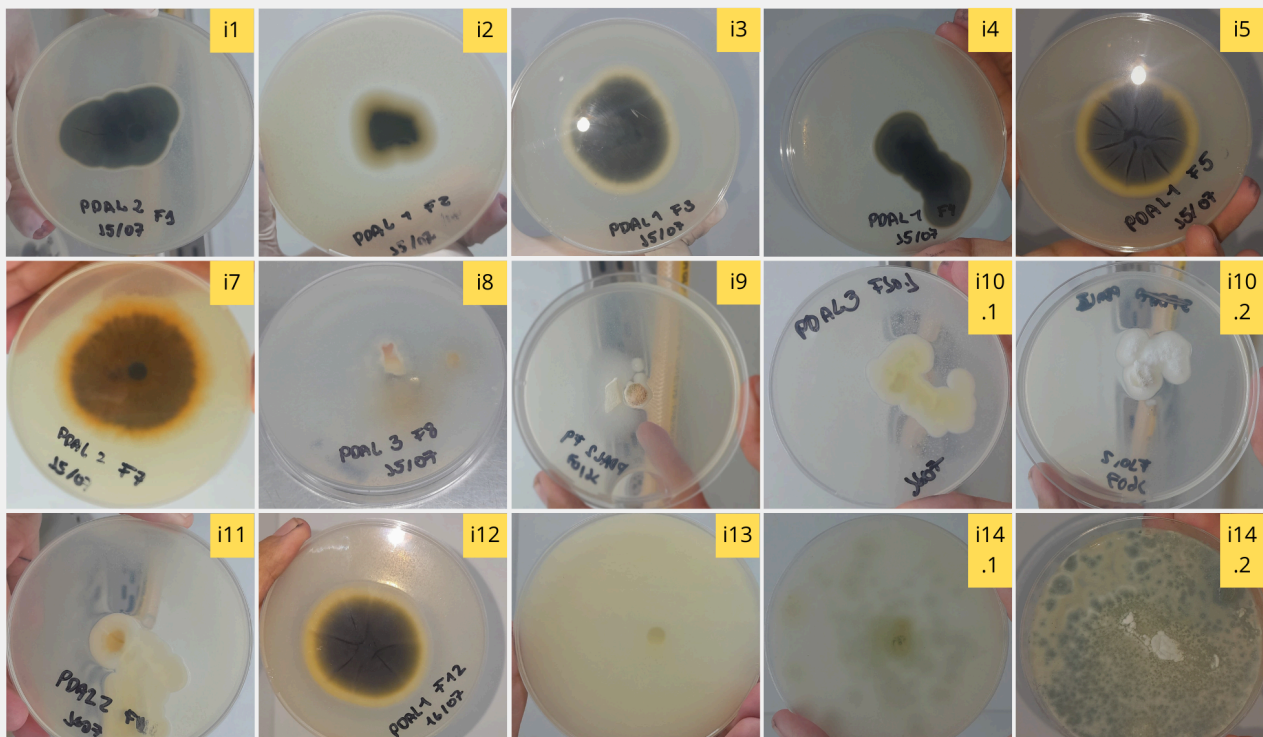
	algumas zonas	localizada
Isolado 9	(-) Sem fluorescência	Sem evidência de atividade lipolítica
Isolado 10.1	(-) Sem fluorescência	Sem evidência de atividade lipolítica
Isolado 10.2	(+) Fluorescência apenas em algumas zonas	Possível atividade lipolítica localizada
Isolado 11	(-) Sem fluorescência	Sem evidência de atividade lipolítica
Isolado 12	(-) Sem fluorescência	Sem evidência de atividade lipolítica
Isolado 13	(++) Fluorescência intensa	Forte atividade lipolítica
Isolado 14.1	(-) Sem fluorescência	Sem evidência de atividade lipolítica
Isolado 14.2	(-) Sem fluorescência	Sem evidência de atividade lipolítica

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5.5 PRODUÇÃO DE PROTEASE

A evidência da atividade proteolítica foi observada na Figura 10, na qual onze isolados apresentaram halos transparentes ao redor das colônias. Os diâmetros médios dos halos variaram entre $4,8 \pm 0,2$ mm e $31,0 \pm 6,01$ mm, indicando diferentes níveis de produção da enzima protease entre os isolados. Os resultados detalhados estão apresentados na Tabela 4. Esses resultados demonstram que os isolados diferem na capacidade de produzir protease, evidenciando variabilidade enzimática entre as cepas avaliadas.

Figura 10 – Fotografias dos halos transparentes indicativos de atividade proteolítica, observados nos isolados após incubação em meio adequado.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 4 - Atividade proteolítica dos fungos isolados em meio específico para protease

Isolado	Diâmetro do halo (mm) \pm DP	Positivo/Negativo
Isolado 1	4,67 \pm 0,92	Positivo
Isolado 2	8,67 \pm 1,63	Positivo
Isolado 3	11,33 \pm 2,26	Positivo
Isolado 4	4,0 \pm 0,89	Positivo
Isolado 5	10,33 \pm 0,57	Positivo
Isolado 7	0	Negativo
Isolado 8	9,67 \pm 1,53	Positivo
Isolado 9	6,33 \pm 1,06	Positivo
Isolado 10.1	21,67 \pm 2,89	Positivo
Isolado 10.2	31,0 \pm 6,01	Positivo

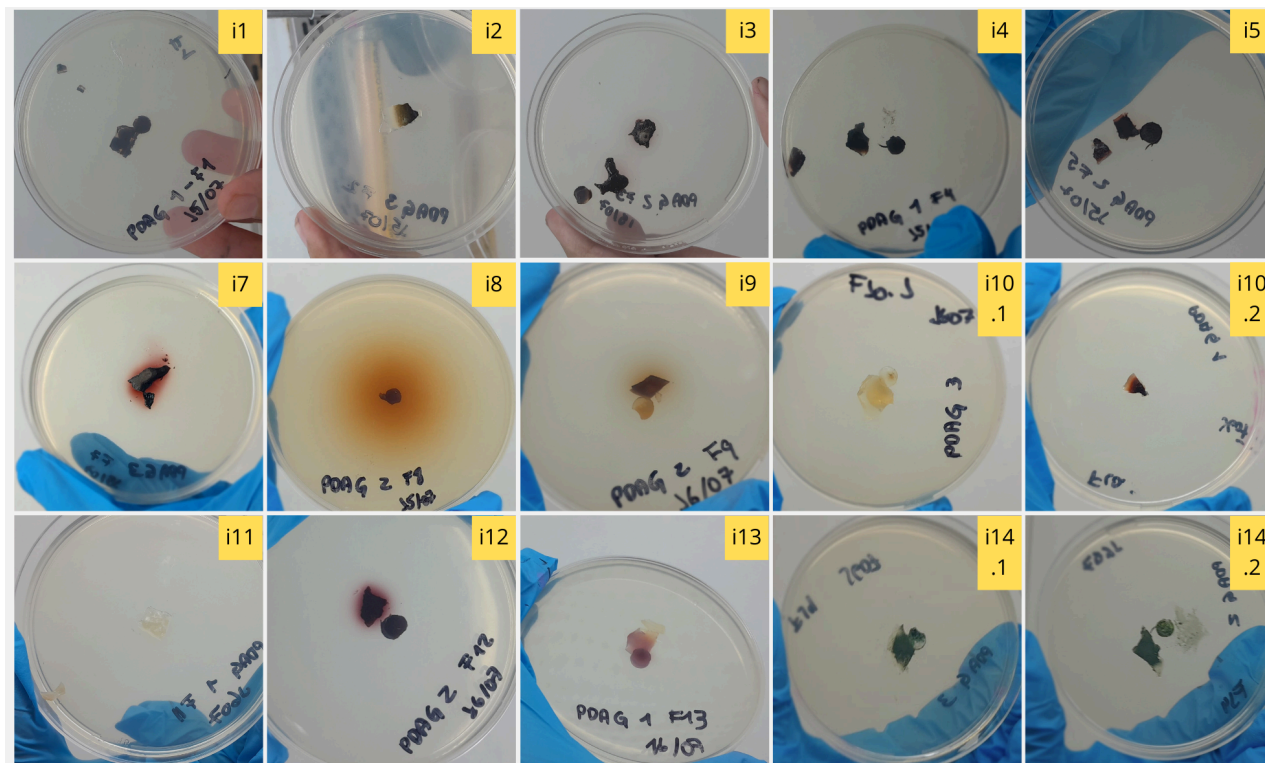
Isolado 11	27,67 ± 2,52	Positivo
Isolado 12	8,67 ± 1,69	Positivo
Isolado 13	-	Inconcluso. Crescimento excessivo impediu a visualização e medição do halo
Isolado 14.1	0	Negativo
Isolado 14.2	-	Inconcluso. Crescimento excessivo impediu a visualização e medição do halo

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

5.6 PRODUÇÃO DE ENZIMAS LIGNINOLÍTICAS

A avaliação da atividade ligninolítica revelou que seis isolados foram capazes de produzir enzimas ligninolíticas, evidenciado pela formação de halos acastanhados ao redor das colônias, como mostrado na Figura 11. O meio foi suplementado com guaiacol, que reage com a lignina degradada, permitindo a visualização da atividade enzimática. A intensidade da coloração observada em cada isolado está detalhada na Tabela 5, sendo classificada como positiva ou negativa. Esses resultados indicam que há variabilidade na capacidade de produção de enzimas ligninolíticas entre os isolados analisados, sugerindo diferenças no potencial biotecnológico das cepas estudadas.

Figura 11 – Fotografias dos halos acastanhados indicativos de atividade ligninolítica observados nos isolados após crescimento em meio suplementado com guaiacol.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Tabela 5 – Intensidade da coloração observada em cada isolado, em meio contendo guaiacol classificando a atividade ligninolítica como positiva ou negativa.

Isolado	Coloração observada	Positivo/Negativo
Isolado 1	(-) Nula	Negativo
Isolado 2	(-) Nula	Negativo
Isolado 3	(+) Pouca	Positivo
Isolado 4	(-) Nula	Negativo
Isolado 5	(-) Nula	Negativo
Isolado 7	(++) Média	Positivo
Isolado 8	(+++) Alta	Positivo
Isolado 9	(++) Média	Positivo
Isolado 10.1	(-) Nula	Negativo
Isolado 10.2	(-) Nula	Negativo

Isolado 11	(-) Nula	Negativo
Isolado 12	(++) Média	Positivo
Isolado 13	(+) Pouca	Positivo
Isolado 14.1	(-) Nula	Negativo
Isolado 14.2	(-) Nula	Negativo

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A Tabela 6 apresenta a atividade enzimática observada em todos os isolados fúngicos avaliados para as cinco enzimas: amilase, celulase, lipase, protease e ligninase. Essa consolidação facilita a comparação direta entre os isolados, evidenciando aqueles com múltiplas atividades enzimáticas, o que pode indicar maior potencial biotecnológico.

Tabela 6 - Perfil das atividades enzimáticas (amilase, celulase, lipase, protease e ligninase) dos isolados fúngicos provenientes de amostras antárticas

Isolado	Celulase	Amilase	Lipase	Protease	Ligninase	Nº actividades
Isolado 1	-	+	-	+	-	2
Isolado 2	+	+	+	+	-	4
Isolado 3	-	+	+	+	+	4
Isolado 4	+	+	-	+	-	3
Isolado 5	+	+	+	+	-	4
Isolado 7	-	-	-	-	+	1
Isolado 8	-	+	+	+	+	4
Isolado 9	-	+	-	+	+	3
Isolado 10.1	-	+	-	+	-	2
Isolado 10.2	-	-	+	+	-	2
Isolado 11	-	+	-	+	-	2
Isolado 12	-	+	-	+	+	3
Isolado 13	-	-	+	-	+	4

Isolado	Celulase	Amilase	Lipase	Protease	Ligninase	N° actividades
Isolado 1	-	+	-	+	-	2
Isolado 2	+	+	+	+	-	4
Isolado 14.1	-	-	-	-	-	0
Isolado 14.2	-	-	-	-	-	0
TOTAL	3	10	6	11	6	

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Legenda: + atividade presente; – atividade ausente.

6 DISCUSSÃO

Entre os 15 isolados avaliados, destacaram-se os isolados 2, 3, 5, 8, e 13, por apresentarem halos expressivos de atividade em mais de um tipo enzimático. O isolado 10.1, por exemplo, exibiu os maiores halos médios para amilase e protease, sugerindo sua capacidade de atuar em processos alimentícios e farmacêuticos que envolvam hidrólise de amido e proteínas. Já o isolado 13, com forte fluorescência no ensaio lipolítico e halo de celulase, revelou-se promissor para aplicações em produção de biocombustíveis e detergentes frios, alinhado ao que reportam Zucconi et al. (2020) e Feller (2013).

No ensaio de lipase, embora a concentração inadequada de Rodamina B possa ter comprometido a sensibilidade do teste, os resultados preliminares indicam que pelo menos seis isolados apresentam capacidade de hidrólise de lipídios. A intensa fluorescência observada no isolado 13 reforça sua prioridade para futuros estudos, com ajustes metodológicos necessários. Para enriquecer a interpretação desses dados preliminares, foram consultadas imagens de halos fluorescentes publicadas por Misbah et al. (2019), que empregaram metodologia semelhante utilizando óleo de oliva e Rodamina B sob luz UV. A semelhança visual entre os halos detectados neste estudo e os descritos no referido artigo serviu como referência auxiliar para identificar isolados potencialmente positivos. Contudo, essa comparação não substitui a necessidade de repetir o experimento com a concentração adequada de Rodamina B, a fim de validar de forma conclusiva a atividade lipolítica.

Quanto às enzimas ligninolíticas, a produção de coloração acastanhada em sete isolados indica a atividade de lacases ou outras oxidases fenólicas. Esses dados são consistentes com estudos prévios (MELO, 2004; MARGESIN & MITEVA, 2010) que apontam fungos psicrófilos como fontes de enzimas relevantes para biorremediação e indústria de papel e celulose. O isolado 8, com coloração classificada como "alta", merece destaque nessa categoria.

A comparação entre as enzimas revela que a atividade proteolítica foi a mais amplamente distribuída entre os isolados (11 positivos), seguida pelas amilases (10 positivos), o que corrobora com a literatura que aponta alta prevalência dessas atividades em ambientes com escassez de nutrientes e necessidade de mobilização eficiente de carbono e nitrogênio (BUZZINI et al., 2012; DUARTE et al., 2018).

Diversos estudos realizados na Ilha Deception, nas Ilhas Shetland do Sul, identificaram fungos com expressão enzimática ativa sob condições frias. Gêneros como

Pseudogymnoascus, *Cladosporium* e *Geomyces* foram isolados em solos e substratos lignocelulósicos, produzindo amilases, celulases e lipases. Entre as leveduras, *Mrakia frigida* e *Vishniacozyma victoriae* (anteriormente *Cryptococcus victoriae*) também demonstraram produção de lipase, protease e amilase em temperaturas abaixo de 15 °C. No mesmo ambiente, a espécie *Solicoccozyma terricola* apresentou atividade lipolítica e produção de lipídios em baixas temperaturas (VAZ, 2011; DUARTE, 2018; TEIXEIRA, 2025).

As características ambientais específicas da Baía dos Baleeiros, na Ilha Deception, influenciam diretamente o perfil enzimático dos fungos isolados, refletindo adaptações essenciais para a sobrevivência em um ambiente antártico extremo. O solo rico em ferro e matéria orgânica residual, proveniente de atividades históricas como o processamento de óleo de baleia, cria um microambiente singular que favorece a seleção de microrganismos capazes de degradar compostos complexos e recalcitrantes, como lignina e resíduos lipídicos.

A predominância de enzimas cold-active, como amilases, proteases e lipases, está diretamente relacionada às baixas temperaturas permanentes da região, que impõem um forte filtro seletivo para microrganismos com metabolismo ativo em frio. Essas enzimas permitem a degradação eficiente de substratos orgânicos limitados, garantindo a mobilização de carbono e nitrogênio em um ambiente com escassez de nutrientes e processos biogeoquímicos lentos (BUZZINI, 2012; DUARTE, 2018).

Além disso, a presença de coloração acastanhada indicativa de atividade ligninolítica em vários isolados sugere que esses fungos estão adaptados para metabolizar compostos aromáticos complexos e metais pesados presentes no solo, reforçando seu potencial para aplicações em biorremediação ambiental, especialmente em solos contaminados ou enriquecidos com resíduos orgânicos e minerais (MELO, 2004; MARGESIN & MITEVA, 2010).

A influência da proximidade marinha e a possível variação na salinidade local também podem explicar a atividade lipolítica observada em alguns isolados, uma vez que lipídios marinhos e resíduos orgânicos derivados da fauna local constituem fontes potenciais de substratos para esses fungos (FELLER, 2013).

Por fim, a heterogeneidade microambiental da Baía dos Baleeiros, incluindo variações locais em temperatura, umidade e composição química do solo, contribui para a diversidade funcional observada, com isolados apresentando múltiplas atividades enzimáticas. Essa diversidade confere vantagem competitiva aos fungos, permitindo-lhes

colonizar nichos específicos e responder a diferentes desafios ambientais, o que reforça a relevância biotecnológica desses microrganismos para aplicações industriais e ambientais em regiões frias (TEIXEIRA, 2025; VAZ, 2011).

7 CONCLUSÃO

O presente estudo evidenciou que 13 dos 15 fungos psicrófilos isolados de solo antártico apresentam capacidade significativa de produzir enzimas extracelulares hidrolíticas, mesmo em condições de baixa temperatura, demonstrando seu potencial biotecnológico para aplicações industriais. A produção enzimática em ambientes frios, comprovada por halos amplos e bem definidos nos ensaios de celulase, amilase e protease, destaca a adaptabilidade e eficiência metabólica desses microrganismos em condições extremas, características essenciais para o desenvolvimento de processos biotecnológicos inovadores. A capacidade desses fungos de sintetizar enzimas ativas em baixas temperaturas representa uma vantagem competitiva para diversos setores industriais, como o alimentício, detergentes, bioenergia e biorremediação. A utilização de enzimas psicrófilas permite a otimização de processos produtivos, reduzindo significativamente o consumo energético, uma vez que reações enzimáticas podem ocorrer em temperaturas inferiores às convencionais, diminuindo a necessidade de aquecimento. Além disso, a operação em baixas temperaturas minimiza a degradação de compostos voláteis e preserva a integridade de biomoléculas termossensíveis, ampliando a qualidade e a eficiência dos produtos finais.

Os resultados obtidos reforçam a importância da Antártica como um reservatório único de diversidade microbiana funcionalmente ativa, cuja exploração biotecnológica pode contribuir para o desenvolvimento sustentável e inovador de tecnologias. A bioprospecção de microrganismos extremófilos, como os fungos psicrófilos estudados, emerge como uma estratégia promissora para a descoberta de enzimas com propriedades adaptativas ao frio, que podem ser aplicadas em processos industriais que demandam alta eficiência catalítica em condições adversas.

Para aprofundar o conhecimento sobre o potencial biotecnológico desses isolados, recomenda-se que estudos futuros incluam a purificação e caracterização bioquímica detalhada das enzimas mais promissoras, visando compreender suas propriedades cinéticas, estabilidade térmica, pH ótimo e especificidade de substrato. Paralelamente, a identificação molecular dos fungos por meio do sequenciamento da região ITS e análises filogenéticas permitirá a correta taxonomia dos isolados, facilitando a comparação com outros microrganismos e a exploração de suas características genéticas e funcionais.

É fundamental destacar que a exploração da biodiversidade polar deve ser conduzida com rigor ético e responsabilidade ambiental, respeitando os acordos internacionais vigentes, como o Protocolo de Madri, que regulam a pesquisa e o uso dos recursos genéticos da Antártica. A ciência antártica deve estar alinhada aos princípios da sustentabilidade, do acesso justo e do compartilhamento equitativo dos benefícios derivados da utilização desses recursos, garantindo que a conservação do ecossistema polar seja preservada para as futuras gerações.

Em suma, este trabalho não apenas amplia o conhecimento sobre a diversidade e o potencial funcional dos fungos psicrófilos antárticos, mas também reforça a relevância da Antártica como fonte estratégica de recursos biotecnológicos únicos. A continuidade das pesquisas nessa área é essencial para explorar plenamente as capacidades desses microrganismos, contribuindo para o desenvolvimento de tecnologias que atendam às necessidades globais de sustentabilidade, inovação e preservação ambiental.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABED, R. M. M. et al. Compostos inibidores de quorum sensing de microrganismos extremófilos isolados de uma camada cianobacteriana hipersalina. *arXiv*, 2013. Disponível em: <https://arxiv.org/abs/1304.5324> . Acesso em: 2 mar. 2025.
- AL-HARBI, Naif Abdullah. *Physiological and biotechnological studies on the microalga Dunaliella, the bacterium Halomonas, and the cyanobacteria Arthrospira and Spirulina*. 2008. Tese (Doutorado em Biologia Molecular e Biotecnologia) – Universidade de Sheffield, Sheffield, 2008. Disponível em: <https://etheses.whiterose.ac.uk/id/eprint/14641/> . Acesso em: 28 fev. 2025.
- ANTARCTIC AND SOUTHERN OCEAN COALITION (ASOC). *Report of the Antarctic and Southern Ocean Coalition (ASOC)*. 2017. Disponível em: <https://www.asoc.org/wp-content/uploads/2022/02/Report-of-the-Antarctic-and-Southern-Ocean-Coalition-2.pdf> . Acesso em: 26 jun. 2025.
- ARCILA ECHAVARRÍA, D. C. Aprovechamiento de subproductos de la industria colombiana de aceite de palma para la producción de un biopolímero del tipo P(HA). 2016. Dissertação (Mestrado) – Universidad de Antioquia, Medellín, 2016. Disponível em: https://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/5742/1/ArcilaDiana_2016_AprovechamientoSubproductosIndustria.pdf . Acesso em: 28 fev. 2025.
- ATLAS, Ronald M. *Handbook of Microbiological Media*. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2010.
- BARROS CAVALCANTE, S. B. et al. The hidden rainbow: the extensive biotechnological potential of Antarctic fungi pigments. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 54, n. 3, p. 1675–1687, 2023. DOI: 10.1007/s42770-023-01011-4.
- BUZZINI, P. et al. Psychrophilic yeasts from worldwide glacial habitats: diversity, adaptation strategies and biotechnological potential. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 82, n. 2, p. 217–241, 2012. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2012.01348.
- CALVO, C. et al. Characteristics of bioemulsifiers synthesised in crude oil media by *Halomonas eurihalina* and their effectiveness in the isolation of bacteria able to grow in the presence of hydrocarbons. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 60, n. 3, p. 347–351, 2002. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12436318/> . Acesso em: 3 mar. 2025.
- CAMACHO, K. F. et al. Antarctic marine sediment as a source of filamentous fungi-derived antimicrobial and antitumor compounds of pharmaceutical interest. *Extremophiles*, v. 28, p. 21, 2024.
- CAMILO, F. M. et al. L-asparaginase e perspectivas no tratamento da leucemia linfoblástica aguda: revisão de literatura. *Revista ESAP*, v. 8, 2022. DOI: 10.22491/2447-3405.2022.V8.80009. Disponível em: <https://www.revista.esap.go.gov.br/index.php/resap/article/view/406> . Acesso em: 2 mar. 2025.
- CANALES MORMONTOY, P. E. Caracterización molecular de bacterias amilolíticas aisladas de las salinas de San Blas - Junín. 2013. Tese (Químico Farmacêutico) – Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, 2013. Disponível em: <https://core.ac.uk/download/pdf/323341493.pdf>. Acesso em: 3 mar. 2025.
- CASTRO, A.; PEREIRA JR., Nei. Produção, propriedades e aplicação de celulases na hidrólise de resíduos agroindustriais. *Química Nova*, v. 33, n. 1, 2010. DOI: 10.1590/S0100-40422010000100031.
- CHEN, Y. et al. Antioxidant and antimicrobial activities of exopolysaccharides from *Halomonas* sp. TD01. *Marine Drugs*, v. 17, n. 12, p. 679, 2019. DOI: 10.3390/md17120679.
- COWAN, D. A. et al. Microbial ecology and biogeochemistry of continental Antarctic soils. *Frontiers in Microbiology*, v. 5, p. 154, 2014. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2014.00154/full> . Acesso em: 26 jun. 2025.
- DEHGHAN-NOUDEH, G. et al. Isolation and characterization of *Halomonas* sp. TBZ202, a novel plant growth-promoting halotolerant bacterium from saline-alkaline soils. *Journal of Applied Microbiology*, v. 120, n. 3, p. 714–726, 2016. DOI: 10.1111/jam.13044.
- DE LIMA CAMPOS, L.; DE OLIVEIRA, J. Bioprospecção de bactérias produtoras de enzimas hidrolíticas de interesse industrial a partir de amostras de compostagem. 2019. 87 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Faculdade Ciências da Vida, Sete Lagoas, 2019. Disponível em: https://www.faculadecienciasdavid.com.br/sig/www/operated/ensinoBibliotecaVirtual/000327_624cd27bc5

[Odb_000235_5e3458150c3db_TCC_Lara_3101_corrigido_banca.pdf](#). Acesso em: 28 fev. 2025.

DESAI, S. S. et al. Isolation of laccase producing fungi and partial characterization of laccase. *Biotechnology, Bioinformatics and Bioengineering*, v. 1, p. 543–549, 2011.

DUARTE, A. W. F. et al. Cold-adapted enzymes produced by fungi from terrestrial and marine Antarctic environments. *Critical Reviews in Biotechnology*, v. 38, n. 4, p. 600–619, 2018. DOI: 10.1080/07388551.2017.1379468.

FELLER, G. Psychrophilic enzymes: from folding to function and biotechnology. *Scientifica*, v. 2013, p. 1–15, 2013. DOI: 10.1155/2013/512840.

FISHER, M. Spotlight back on Antarctica's peculiar soils as scientists study climate change effects. *Soil Horizons*, v. 55, n. 2, 2014. DOI: 10.2136/sh2014-55-2-f.

FULZELE, R. et al. Characterization of novel extracellular protease produced by marine bacterial isolate from the Indian Ocean. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 42, p. 1364–1373, 2011. DOI: 10.1590/S1517-83822011000400018.

FULZELE, R. S. et al. Screening of fungal isolates for protease production. *African Journal of Biotechnology*, v. 10, n. 50, p. 10165–10170, 2011.

GIONGO, Janice Luehring. Caracterización y aplicación de proteasas producidas por linajes de *Bacillus* sp. 2006. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/14798/000667672.pdf>. Acesso em: 3 mar. 2025.

GONÇALVES, J. V. S. et al. Bioprospecção de bactérias halofílicas e halotolerantes solubilizadoras de fosfato. In: REUNIÃO ANUAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRRJ, 2023. Anais [...]. UFRRJ, 2023. Disponível em: <https://agrirex.congresse.me/ixraic2021-2022/resumos/28034.pdf>.

GORAJ, W.; STEPNIEWSKA, Z.; SZAFRANEK-NAKONIECZNA, A. Biosynthesis and the possibility of using ectoine and hydroxyectoine in health care. *Advancements of Microbiology*, v. 58, n. 3, p. 339–349, 2019. DOI: 10.21307/PM-2019.58.3.339.

GUDIÑA, E. J. et al. Antimicrobial and antiadhesive properties of a biosurfactant isolated from *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* A20. *Letters in Applied Microbiology*, v. 50, n. 4, p. 419–424, 2010. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2010.02818.x.

GUZMÁN, D. et al. Evolutionary patterns of carbohydrate transport and metabolism in *Halomonas boliviensis* as derived from its genome sequence: influences on polyester production. *Aquatic Biosystems*, v. 8, p. 9, 2012. DOI: 10.1186/2046-9063-8-9.

HEIGL, Carina. Produção de ectoína por bactérias halofílicas do gênero *Halomonas*. 2016. Dissertação (Mestrado) – UFRRJ, Rio de Janeiro, 2016. Disponível em: <http://epqb.eq.ufrj.br/download/producao-de-ectoina-por-bacterias-halofilicas-do-genero-halomonas.pdf>.

JODŁOWSKA, I.; BIAŁKOWSKA, A. M. Cold-adapted fungi: goldmine of biomolecules applicable in industry. *Applied Sciences*, v. 14, n. 24, p. 11950, 2024. DOI: 10.3390/app142411950.

LIMA, F. Estudo da produção e caracterização de amilase de *Aspergillus niger* e *Aspergillus oryzae* para aplicação na indústria alimentícia. 2017. Dissertação (Mestrado) – UFMA, São Luís, 2017. Disponível em: <https://tede2.ufma.br/jspui/bitstream/tede/4589/2/FernandaJenifferLindosoLima.pdf>.

LIU, Y. et al. Cold-adapted enzymes: mechanisms, engineering and biotechnological application. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, v. 46, n. 10, p. 1399–1410, 2023. DOI: 10.1007/s00449-023-02904-2.

LOPES, I. R. et al. Microrganismos marinhos: um reservatório de hidrolases biotecnologicamente interessantes. *Revista de Biologia*, v. 17, n. 2, 2023. Disponível em: <https://revistas.usp.br/revbiologia/article/view/176134>.

MAGALHÃES, S. Bactérias promotoras de crescimento vegetal na atenuação de estresse salino e déficit hídrico na agricultura. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso – IFAP, Porto Grande, 2023. Disponível em: <https://ojs.revistacontribuciones.com/ojs/index.php/clcs/article/view/7761>.

MARGESIN, R.; MITEVA, V. Diversity and ecology of psychrophilic microorganisms. *Research in Microbiology*, v. 162, n. 3, p. 346–361, 2010. DOI: 10.1016/j.resmic.2010.12.004.

MELO, I.; OLIVEIRA, P. Produção de enzimas ligninolíticas por fungos isolados de solos sob cultivo de arroz irrigado. Brasília: Embrapa Meio Ambiente, 2004. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/14511/producao-de-enzimas-ligninoliticadas-por-fu>

[ngos-isolados-de-solos-sob-cultivo-de-arroz-irrigado](#) .

MESSIAS, J. et al. Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. *Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, v. 32, n. 2, p. 213–234, 2011. DOI: 10.5433/1679-0375.2011v32n2p213.

MISBAH, A. et al. Microorganisms isolated from Moroccan olive-mill wastes: screening of their enzymatic activities for biotechnological use. *European Scientific Journal*, [S.l.], v. 15, n. 30, p. 464-478, out. 2019. DOI: 10.19044/esj.2019.v15n30p464.

NASA EARTH OBSERVATORY. Antarctic Mapping. [S.l.], 2016. Disponível em: <https://earthobservatory.nasa.gov/images/> . Acesso em: 15 jul. 2024.

NASA EARTH OBSERVATORY. Antarctic warming trends. 2016. Disponível em: <https://earthobservatory.nasa.gov/images/36736/antarctic-warming-trends> . Acesso em: 13 ago. 2025.

OGAKI, M. B. et al. Cultivable fungi present in deep-sea sediments of Antarctica: taxonomy, diversity, and bioprospecting of bioactive compounds. *Extremophiles*, v. 24, p. 227–238, 2020. DOI: 10.1007/s00792-019-01148-x.

PLANETA. A candidata a ilha que o gelo escondia. *Revista Planeta*, 8 ago. 2022. Disponível em: <https://revistaplaneta.com.br/a-candidata-a-ilha-que-o-gelo-escondia/> . Acesso em: 14 ago. 2025.

POINTING, S. B. Qualitative methods for the screening of lignocellulolytic enzyme activities in tropical fungi. *Fungal Diversity*, v. 2, p. 17–33, 1999.

POVEDA, G. et al. Cold-active pectinolytic activity produced by filamentous fungi associated with Antarctic marine sponges. *Biology Research*, v. 51, p. 28, 2018. DOI: 10.1186/s40659-018-0177-4.

QUILLAGUAMÁN, J. et al. Poly(β -hydroxybutyrate) production by a moderate halophile, *Halomonas boliviensis* LC1 using starch hydrolysate as substrate. *Journal of Applied Microbiology*, Oxford, v. 99, n. 1, p. 151–157, jul. 2005. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2005.02589.x.

RAMLI, A. N. M. et al. Molecular cloning, expression and biochemical characterisation of a cold-adapted novel recombinant chitinase from *Glaciozyma antarctica* P112. *Microbial Cell Factories*, v. 10, p. 94, 2011. DOI: 10.1186/1475-2859-10-94.

ROCHA, A. F. S.; SILVA, L. I. Produção e caracterização de L-asparaginase recombinante para aplicações biomédicas. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal de Alagoas, Arapiraca, 2023. Disponível em: <https://ud10.arapiraca.ufal.br/repositorio/publicacoes/5184>.

ROTH, G. Produção de L-asparaginase II recombinante de *Erwinia carotovora* em cultivos de *Escherichia coli* em batelada alimentada. 2011. Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011. Disponível em: <https://repositorio.pucrs.br/dspace/bitstream/10923/1286/1/000437677-Texto%2BCompleto-0.pdf> .

ROYLES, J. et al. Plants and soil microbes respond to recent warming on the Antarctic Peninsula. *Current Biology*, v. 23, n. 18, p. 1702–1706, 2013. DOI: 10.1016/j.cub.2013.07.011.

RUGINESCU, Robert et al. Exploring the hydrolytic potential of cultured halophilic bacteria isolated from the Atacama Desert. *FEMS Microbiology Letters*, v. 366, 2019. DOI: 10.1093/femsle/fnz224.

SILVA, T. R. et al. Bacteria from Antarctic environments: diversity and detection of antimicrobial, antiproliferative, and antiparasitic activities. *Polar Biology*, v. 41, p. 1505

STEIG, E. J. et al. Warming of the Antarctic ice-sheet surface since the 1957 International Geophysical Year. *Nature*, v. 457, p. 459–462, 2009. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nature07669> . Acesso em: 13 ago. 2025.

TEATHER, R.; WOOD, P. J. Use of Congo red polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied and Environmental Microbiology*, v. 43, p. 777–780, 1982.

TEIXEIRA, E. A. A. et al. Fungal diversity in Antarctic lignocellulosic substrates and their production of enzymes and lipids with potential industrial applications. *Blue Biotechnology*, v. 2, p. 11, 2025. DOI: 10.1186/s44315-025-00035-9.

TSUJI, M. et al. Survey on fungi in Antarctica and High Arctic regions, and their impact on climate change. *Climate*, v. 11, n. 9, p. 195, 2023. DOI: 10.3390/cli11090195.

VAZ, A. B. M. et al. The diversity, extracellular enzymatic activities and photoprotective compounds of yeasts

isolated in Antarctica. *Brazilian Journal of Microbiology*, São Paulo, v. 42, n. 3, p. 937–947, 2011. DOI: 10.1590/S1517-838220110003000012.

ZHANG, T. et al. A comprehensive assessment of fungal communities in various habitats from an ice-free area of maritime Antarctica: diversity, distribution, and ecological trait. *Environmental Microbiome*, v. 17, p. 54, 2022. DOI: 10.1186/s40793-022-00450-0.

ZUCCONI, L. et al. Extracellular enzymes and bioactive compounds from Antarctic terrestrial fungi for bioprospecting. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v. 17, n. 18, p. 6459, 2020. DOI: 10.3390/ijerph17186459.